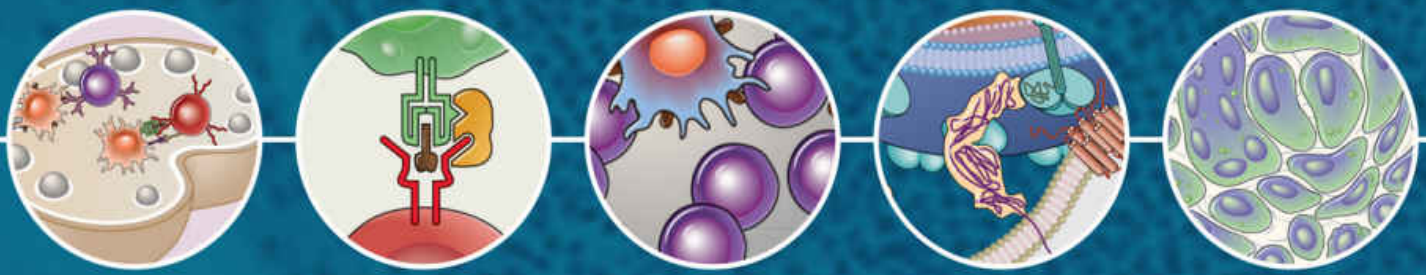
A maneira inteligente de estudar

Student Consult

TRADUÇÃO DA
9ª EDIÇÃO

IMUNOLOGIA
CELULAR E MOLECULAR



Abul K. Abbas • Andrew H. Lichtman • Shiv Pillai

ELSEVIER

Imunologia Celular e Molecular

NONA EDIÇÃO

Abul K. Abbas, MBBS

Distinguished Professor in Pathology
Chair, Department of Pathology
University of California San Francisco
San Francisco, California

Andrew H. Lichtman, MD, PhD

Professor of Pathology
Harvard Medical School
Brigham and Women's Hospital
Boston, Massachusetts

Shiv Pillai, MBBS, PhD

Professor of Medicine and Health Sciences and Technology
Harvard Medical School
Massachusetts General Hospital
Boston, Massachusetts

Illustrations by
David L. Baker, MA
Alexandra Baker, MS, CMI

DNA Illustrations, Inc

ELSEVIER

Sumário

Capa

Folha de rosto

Copyright

Revisão científica e tradução

Dedicatória

Prefácio

Capítulo 1: Propriedades e Visão Geral das Respostas Imunes

- Imunidade Inata e Adaptativa
- Imunidade Inata: a Defesa Inicial
- Imunidade Adaptativa
- Resumo

Capítulo 2: Células e Tecidos do Sistema Imune

- Células do Sistema Imune
- Anatomia e Funções dos Tecidos Linfoides

Resumo

Capítulo 3: Circulação de Leucócitos e Migração para os Tecidos

VisãO Geral da MigraçãO de LeucóCitos

Moléculas de Adesão nos Leucócitos e nas Células Endoteliais Envolvidas no Recrutamento de Leucócitos

Quimiocinas e Receptores de Quimiocinas

Interações Leucócito-endotélio e Recrutamento de Leucócitos para os Tecidos

Migração de neutrófilos e monócitos para sítios de infecção ou de lesão tecidual

Migração e Recirculação de Linfócitos T

Migração de Linfócitos B

Resumo

Capítulo 4: Imunidade Inata

Visão Geral da Imunidade Inata

Reconhecimento de Microrganismos e do Próprio Danificado pelo Sistema Imune Inato

Receptores de Reconhecimento de Padrão Associado a Célula e Sensores de Imunidade Inata

Componentes Celulares do Sistema Imune Inato

Moléculas Efetoras Solúveis de Imunidade Inata

A Resposta Inflamatória

A Resposta Antiviral

Estimulação da Imunidade Adaptativa

Mecanismos que Limitam as Respostas Imunes Inatas

Resumo

Capítulo 5: Anticorpos e Antígenos

Estrutura do Anticorpo

Síntese, Montagem e Expressão das Moléculas de Imunoglobulina

Ligação dos Anticorpos aos Antígenos

Relações Estrutura-função nas Moléculas de Anticorpos

Resumo

Capítulo 6: Apresentação de Antígeno para Linfócitos T e as Funções das Moléculas do Complexo Principal de Histocompatibilidade

Propriedades dos Antígenos Reconhecidos Pelos Linfócitos T

Captura do Antígeno e as Funções das Células Apresentadoras de Antígeno

O Complexo Principal de Histocompatibilidade

Processamento de Antígenos Proteicos

Apresentação de Antígenos não Proteicos para Células T

Resumo

Capítulo 7: Receptores Imunológicos e a Transdução de Sinais

Visão Geral da Transdução de Sinal

Família dos Receptores Imunológicos

Complexo Receptor e a Sinalização de Células T

O Complexo Receptor Antigênico do Linfócito B

Atenuação da Sinalização dos Receptores Imunológicos

Receptores de Citocina e Sinalização

Resumo

Capítulo 8: Desenvolvimento dos Linfócitos e Rearranjo Genético do Receptor Antigênico

Visão Geral do Desenvolvimento dos Linfócitos

Rearranjo de Genes do Receptor Antigênico em Linfócitos B e T

Desenvolvimento do Linfócito B

Desenvolvimento do Linfócito T

Resumo

Capítulo 9: Ativação dos Linfócitos T

Visão Geral da Ativação dos Linfócitos T

Sinais para Ativação dos Linfócitos T

Respostas Funcionais dos Linfócitos T

Declínio das Respostas das Células T

Resumo

Capítulo 10: Diferenciação e Funções de Células T Efetoras CD4+

Visão Geral das Respostas Imunes Mediadas por Células T CD4+

Subpopulações de Células T CD4+ Efetoras

A Subpopulação Th1

A Subpopulação Th2

A Subpopulação Th17

Funções de Outras Subpopulações de Células T

Resumo

Capítulo 11: Diferenciação e Funções das Células T CD8+ Efetoras

Diferenciação das Células T CD8+ em Linfócitos T Citotóxicos

Funções Efetoras dos Linfócitos T CD8+ Citotóxicos

Funções dos CTLs CD8+ na Defesa do Hospedeiro

Resumo

Capítulo 12: Ativação da Célula B e Produção de Anticorpos

Visão Geral das Respostas Imunes Humorais

Reconhecimento Antigênico e Ativação Antígeno-induzida da Célula B

Respostas de Anticorpos Dependentes de Célula T Auxiliar a Antígenos Proteicos

Respostas de Anticorpos a Antígenos T-Independentes

Feedback de Anticorpos: Regulação das Respostas Imunes Humorais por Receptores Fc

Resumo

Capítulo 13: Mecanismos Efetores da Imunidade Humoral

Visão Geral da Imunidade Humoral

Neutralização de Microrganismos e Toxinas Microbianas

Opsonização e Fagocitose Mediadas por Anticorpos

O Sistema Complemento

Imunidade Neonatal

Resumo

Capítulo 14: Imunidade Especializada nas Barreiras Epiteliais e Tecidos Imunoprivilegiados

Características Gerais da Imunidade nas Barreiras Epiteliais

Imunidade no Sistema Gastrintestinal

Imunidade em Outros Tecidos de Mucosa

Sistema Imune Cutâneo

Tecidos Imunoprivilegiados

Resumo

Capítulo 15: Tolerância Imunológica e Autoimunidade

Visão Geral da Tolerância Imunológica

Tolerância dos Linfócitos T

Tolerância dos Linfócitos B

Tolerância a Microrganismos Comensais e Outros Antígenos Estranhos

Mecanismos de Autoimunidade

Resumo

Capítulo 16: Imunidade aos Microrganismos

Visão Geral das Respostas Imunes aos Microrganismos

Imunidade a Bactérias Extracelulares

Imunidade a Bactérias Intracelulares

Imunidade aos Fungos

Imunidade aos Vírus

Imunidade aos Parasitas

Estratégias para o Desenvolvimento de Vacinas

Resumo

Capítulo 17: Imunologia do Transplante

Princípios Gerais da Imunologia do Transplante

Respostas Imunes Adaptativas aos Aloenxertos

Padrões e Mecanismos de Rejeição dos Aloenxertos

Prevenção e Tratamento da Rejeição dos Aloenxertos

Transplante Xenogênico

Transfusão Sanguínea e os Grupos de Antígenos Sanguíneos ABO e RH

Transplante de Células-tronco Hematopoiéticas (CTHs)

Resumo

Capítulo 18: Imunidade aos Tumores

Visão Geral da Imunidade aos Tumores

Antígenos Tumorais

Respostas Imunes aos Tumores

Evasão das Respostas Imunes pelos Tumores

Imunoterapia para Tumores

Resumo

Capítulo 19: Doenças de Hipersensibilidade

Causas das Doenças de Hipersensibilidade

Mecanismos e Classificação das Reações de Hipersensibilidade

Doenças Causadas por Anticorpos

Doenças Causadas por Linfócitos T

Abordagens Terapêuticas para as Doenças Imunológicas

Doenças Imunológicas Selecionadas: Patogênese e Estratégias Terapêuticas

Resumo

Capítulo 20: Alergia

Visão Geral das Reações Alérgicas IgE-dependentes

Produção de IgE

Células Envolvidas nas Reações Alérgicas

Reações Dependentes de IgE e de Mastócitos

Suscetibilidade Genética à Doença Alérgica

Doenças Alérgicas em Seres Humanos, Patogênese e Terapia

Os Papéis Protetores das Reações Imunes Mediadas por IgE e por mastócitos

Resumo

Capítulo 21: Imunodeficiências Congênitas e Adquiridas

Visão Geral das Doenças por Imunodeficiências

Imunodeficiências Primárias (Congênitas)

Imunodeficiências Secundárias (Adquiridas)

Vírus da Imunodeficiência Humana e a Síndrome da Imunodeficiência Adquirida

Resumo

Glossário

Apêndices

Apêndice I: Citocinas

Apêndice II: Principais Características de Moléculas CD Selecionadas

Apêndice III: Técnicas de Laboratório Comumente Usadas em Imunologia

Índice

Copyright

© 2019 Elsevier Editora Ltda.
Todos os direitos reservados e protegidos pela Lei 9.610 de 19/02/1998.
Nenhuma parte deste livro, sem autorização prévia por escrito da editora, poderá ser reproduzida ou transmitida sejam quais forem os meios empregados: eletrônicos, mecânicos, fotográficos, gravação ou quaisquer outros.
ISBN: 978-85-352-9074-5
ISBN versão eletrônica: 978-85-352-9075-2

CELLULAR AND MOLECULAR IMMUNOLOGY, NINTH EDITION
Copyright © 2018, 2015, 2012, 2007, 2005, 2003, 2000, 1997, 1994, 1991 by Elsevier, Inc.

This translation of Cellular and Molecular Immunology, Ninth Edition, by Abul K. Abbas, Andrew H. Lichtman and Shiv Pillai was undertaken by Elsevier Editora Ltda. and is published by arrangement with Elsevier Inc.
Esta tradução de Cellular and Molecular Immunology, Ninth Edition, de Abul K. Abbas, Andrew H. Lichtman e Shiv Pillai foi produzida por Elsevier Editora Ltda. e publicada em conjunto com Elsevier Inc.
ISBN: 978-0-323-47978-3

Capa
Luciana Mello e Monika Mayer

Editoração Eletrônica
Thomson Digital

Elsevier Editora Ltda.

Conhecimento sem Fronteiras

Rua da Assembleia, n° 100 – 6° andar – Sala 601
20011-904 – Centro – Rio de Janeiro – RJ

Av. Nações Unidas, n° 12995 – 10° andar
04571-170 – Brooklin – São Paulo – SP

Serviço de Atendimento ao Cliente
0800 026 53 40
atendimento1@elsevier.com

Consulte nosso catálogo completo, os últimos lançamentos e os serviços exclusivos no site www.elsevier.com.br

Nota

Esta tradução foi produzida por Elsevier Brasil Ltda. sob sua exclusiva responsabilidade. Médicos e pesquisadores devem sempre fundamentar-se em sua experiência e no próprio conhecimento para avaliar e empregar quaisquer informações, métodos, substâncias ou experimentos descritos nesta publicação. Devido ao rápido avanço nas ciências médicas, particularmente, os diagnósticos e a posologia de medicamentos precisam ser verificados de maneira independente. Para todos os efeitos legais, a Editora, os autores, os editores ou colaboradores relacionados a esta tradução não assumem responsabilidade por qualquer dano/ou prejuízo causado a pessoas ou propriedades envolvendo responsabilidade pelo produto, negligência ou outros, ou advindos de qualquer uso ou aplicação de quaisquer métodos, produtos, instruções ou ideias contidos no conteúdo aqui publicado.

CIP-BRASIL. CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO
SINDICATO NACIONAL DOS EDITORES DE LIVROS, RJ

A112i
9. ed.

Abbas, Abul K.
Imunologia celular e molecular / Abul K. Abbas, Andrew H. Lichtman, Shiv Pillai ; ilustração David L. Baker ; [tradução Anderson de Sá Nunes, Soraya Imon de Oliveira]. - 9. ed. - Rio de Janeiro : Elsevier, 2019.

: il.

Tradução de: Cellular and molecular immunology
Apêndice
Inclui bibliografia e índice
glossário
ISBN 978-85-352-9074-5

1. Imunidade celular. 2. Imunologia molecular. 3. Linfócitos - Imunologia. I. Lichtman, Andrew H. II. Pillai, Shiv. III. Baker, David L. IV. Nunes, Anderson de Sá. V. Oliveira, Soraya Imon de. VI. Título.

18-53098 CDD: 616.079
CDU: 612.017

Revisão científica e tradução

Anderson de Sá Nunes
Professor Associado do Departamento de Imunologia do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo (USP)
Pós-Doutorado pelo National Institute of Allergy and Infectious Diseases/NIH, Estados Unidos
Doutorado e Mestrado em Imunologia Básica e Aplicada pela Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da USP
Bacharelado em Ciências Biológicas - Modalidade Médica pelo Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista (UNESP), Botucatu - SP

Soraya Imon de Oliveira
Doutorado em Ciências/Imunologia pelo Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo (USP)
Bacharelado em Ciências Biológicas – Modalidade Médica pelo Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista (UNESP), Botucatu - SP

Dedicatória

Aos nossos alunos, colegas e familiares

Prefácio

Esta 9ª edição de *Imunologia Celular e Molecular* inclui revisões substanciais que fizemos para manter o livro-texto atualizado com os avanços científicos e, ao mesmo tempo, preservar o estilo claro e legível típico das edições anteriores. Sempre que adicionamos informação nova, enfocamos primeiramente os conceitos importantes, sem aumentar a extensão do livro. Também reescrevemos muitas seções para melhorar a clareza, precisão e completude.

A imunologia moderna está se movendo para além do estabelecimento dos princípios fundamentais dos mecanismos das respostas imunes, para aplicar estes princípios ao conhecimento da doença humana e ao desenvolvimento de novas terapias. Uma extraordinária revolução nas terapias imunológicas ocorreu ao longo dos últimos 20 anos. É especialmente gratificante para os imunologistas que algumas das imunoterapias mais inovadoras e efetivas tenham sido desenvolvidas graças ao amadurecimento da ciência básica e à elucidação cada vez mais detalhada dos complexos mecanismos de ativação e regulação imunes. Nesta edição do livro, prestamos atenção especialmente à relevância clínica da imunologia e enfatizamos o modo como as terapias recém-desenvolvidas atuam, bem como quais são seus pontos fortes e fracos.

Além destes aspectos translacionais da imunologia, também atualizamos os conceitos básicos em todos os pontos em que algum conhecimento novo significativo foi produzido. Alguns exemplos destes avanços fundamentais incluem as perspectivas atuais acerca das células linfoides inatas, a biologia da ativação do inflamassomo, o papel das células T auxiliares foliculares nas respostas de anticorpos nos centros germinativos, os subgrupos de linfócitos de memória recém-descritos, e os papeis protetor e patogênico de células T efetoras.

Como nas edições anteriores, cada capítulo é redigido de modo a poder ser lido e compreendido por si só, sem necessidade de fazer referência a outros capítulos. Para tanto, muitas vezes é preciso repetir alguns conceitos básicos e princípios gerais que são abrangidos em outros capítulos. Concluímos que esta repetição é valiosa porque permite ao leitor consolidar o aprendizado e compreender o conteúdo de cada capítulo de maneira independente dos demais. Também consideramos que isto é útil para os docentes ensinarem a partir do livro, porque lhes permite considerar cada capítulo como sendo o tópico de uma ou mais aulas expositivas.

Ademais, continuamos aprimorando nosso programa de ilustração. Todas as ilustrações foram revisadas para proporcionarem maior profundidade e clareza visual. Novas figuras foram adicionadas, enquanto as figuras previamente usadas foram revisadas e muitas vezes modificadas para melhorar a precisão. Mantivemos os aspectos do *design*, como o uso do texto em negrito ou itálico para destacar o conteúdo fundamental, com o intuito de tornar o livro fácil de ler. As referências sugeridas continuam enfatizando artigos de revisão recentes que fornecem cobertura aprofundada de determinados tópicos particulares para os leitores interessados. Dividimos as listas em seções baseadas em temas, para ajudar os leitores a encontrarem artigos mais úteis para atender as suas necessidades.

Os indivíduos que nos ajudaram com tópicos específicos são (em ordem alfabética de sobrenomes:): Drs. Mark Anderson, Jason Cyster, Andrew Gross, Richard Locksley, Miriam Merad, Michael Rosenblum, Wayne Shreffler e Catherine Wu – todos generosos no fornecimento de recomendações e comentários. Nossos ilustradores, David e Alexandra Baker, da DNA Illustrations, continuam sendo parceiros integrais no livro, fornecendo sugestões valiosas quanto à clareza e precisão. Alguns membros da equipe da Elsevier tiveram papeis decisivos. Nosso editor, James Merritt, tem sido fonte de suporte e estímulo. Nossa editora-chefe, Rebecca Gruliow, conduziu o livro ao longo de sua preparação e na produção. Ryan Cook foi responsável pela administração do *design*, e John Casey teve valor inestimável no decorrer de todo o estágio de produção. Também temos uma dívida de gratidão com nossos familiares, por seu

suporte incansável e por tolerarem as nossas ausências. Por fim, nossos estudantes foram a inspiração original para a 1ª edição do livro, e nos mantemos continuamente gratos a eles, porque é a partir deles que aprendemos a pensar em ciência da imunologia e em como transmitir conhecimento da forma mais clara e mais significativa.

Abul K. Abbas

Andrew H. Lichtman

Shiv Pillai

CAPÍTULO 1

Propriedades e Visão Geral das Respostas Imunes

IMUNIDADE INATA E ADAPTATIVA

IMUNIDADE INATA: A DEFESA INICIAL

IMUNIDADE ADAPTATIVA

- Características Fundamentais das Respostas Imunes Adaptativas
- Visão Geral da Imunidade Humoral e Mediada por Células
- Iniciação e Desenvolvimento das Respostas Imunes Adaptativas
- Imunidade Humoral
- Imunidade Mediada por Células

RESUMO

O termo *imunidade* é derivado da palavra latina *imunitas*, a qual se refere à proteção contra processos legais oferecida aos senadores romanos durante seus mandatos. Historicamente, imunidade significa proteção contra doença e, mais especificamente, doença infecciosa. As células e moléculas responsáveis pela imunidade constituem o **sistema imune**, e sua resposta coletiva e coordenada à entrada de substâncias estranhas é denominada **resposta imune**.

A função fisiológica do sistema imune é a defesa contra microrganismos infecciosos; entretanto, mesmo substâncias estranhas não infecciosas e produtos de células danificadas podem elicitar respostas imunes. Além disso, os mecanismos que normalmente protegem os indivíduos contra uma infecção e eliminam substâncias estranhas também são capazes de

causar lesão tecidual e doença em algumas situações. Portanto, uma definição mais inclusiva de resposta imune é uma reação aos microrganismos, assim como às moléculas, que são reconhecidas como estranhas, independentemente da consequência fisiológica ou patológica de tal reação. Sob certas situações, mesmo moléculas próprias podem elicitar respostas imunes (as chamadas doenças autoimunes). A Imunologia é o estudo das respostas imunes nesse sentido mais amplo, e dos eventos celulares e moleculares que ocorrem após um organismo encontrar microrganismos e outras macromoléculas estranhas.

Os historiadores frequentemente se referem a Tucídides, no século V a.C., em Atenas, como sendo a primeira pessoa a mencionar a imunidade contra uma infecção por ele denominada praga (mas que provavelmente não era a peste bubônica que reconhecemos hoje em dia). O conceito de imunidade protetora pode ter existido muito antes, como sugerido pelo antigo costume chinês de tornar as crianças resistentes à varíola após inalação do pó preparado com base em lesões cutâneas de pacientes que se recuperaram da doença. A Imunologia, em sua forma moderna, é uma ciência experimental na qual as explicações dos fenômenos imunológicos são baseadas em observações experimentais e nas conclusões obtidas com base nessas observações. A evolução da Imunologia como uma disciplina experimental é dependente da nossa capacidade de manipular a função do sistema imune sob condições controladas.

Historicamente, o primeiro exemplo claro dessa manipulação, e um dos que permanece dentre os mais dramáticos já registrados, foi a vacinação bem-sucedida realizada por Edward Jenner contra a varíola. Jenner, um médico inglês, percebeu que ordenhadoras que tinham se recuperado da varíola bovina nunca contraíam a varíola humana, forma mais grave da doença. Com base nessa observação, ele injetou o material de uma pústula de varíola bovina no braço de um menino de 8 anos. Quando esse menino foi posteriormente inoculado com a varíola humana, a doença não se desenvolveu. O tratado de Jenner, um marco sobre **vacinação** (do latim *vaccinus*, ou derivado de vacas) foi publicado em 1798. O tratado levou à aceitação geral desse método para a indução da imunidade contra doenças infecciosas, e a vacinação permanece o método mais efetivo para a prevenção de infecções (Tabela 1.1). Um testemunho eloquente da importância da Imunologia foi o anúncio pela Organização Mundial da Saúde, em 1980, de que a varíola foi a primeira doença a ser erradicada em todo o mundo por um programa de vacinação.

Tabela 1.1

Efetividade das Vacinas para Algumas Doenças Infecciosas Comuns

Doença	Número Máximo de Casos (Ano)	Número de Casos em 2014	Mudança na Porcentagem
Difteria	206.939 (1921)	0	-99,99
Sarampo	894.134 (1941)	669	-99,93
Caxumba	152.209 (1968)	737	-99,51
Coqueluche	265.269 (1934)	10.631	-95,99
Pólio (paralisia infantil)	21.269 (1952)	0	-100,00
Rubéola	57.686 (1969)	2	-99,99
Tétano	1.560 (1923)	8	-99,48
Haemophilus influenza tipo B	~ 20.000 (1984)	34	-99,83
Hepatite B	26.611 (1985)	1.098	-95,87

Esta tabela ilustra a impressionante redução na incidência de doenças infecciosas selecionadas nos Estados Unidos para as quais foram desenvolvidas vacinas efetivas. Dados de Orenstein WA, Hinman AR, Bart KJ, Hadler SC: Immunization. Em Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors): *Principles and practices of infectious diseases*, 4. ed. New York, 1995, Churchill Livingstone; and *Morbidity and Mortality Weekly Report* 64, n° 20, 2015.

Desde a década de 1960, houve uma transformação notável em nosso entendimento sobre o sistema imune e suas funções. Os avanços nas técnicas de cultura celular (incluindo a produção de anticorpo monoclonal), imunoquímica, metodologia de DNA recombinante, cristalografia de raios X e criação de animais geneticamente modificados (especialmente camundongos transgênicos e *knockout*) transformaram a Imunologia, então largamente descritiva, em uma ciência na qual os diversos fenômenos imunológicos podem ser explicados em termos estruturais e bioquímicos. Alguns dos mais importantes avanços na Imunologia surgiram a partir dos anos 1990, com o desenvolvimento de terapias focando diferentes componentes do sistema imune que são baseados em ciência fundamental e estão alterando dramaticamente a progressão de doenças inflamatórias e câncer em seres humanos.

Neste capítulo, delinearemos as características gerais das respostas imunes e introduziremos os conceitos que formam as bases fundamentais da Imunologia moderna e que se repetem ao longo deste livro.

Imunidade Inata e Adaptativa

A defesa contra microrganismos é mediada por respostas sequenciais e coordenadas que são denominadas imunidade inata e adaptativa (Fig. 1.1 e Tabela 1.2). A **imunidade inata** (também chamada de **imunidade natural** ou **imunidade nativa**) é essencial para a defesa contra microrganismos nas primeiras horas ou dias após a infecção, antes que as respostas imunes adaptativas tenham se desenvolvido. A imunidade inata é mediada por mecanismos que já existem antes da ocorrência de uma infeção (por isso *inata*) e que facilitam rápidas respostas contra microrganismos invasores.

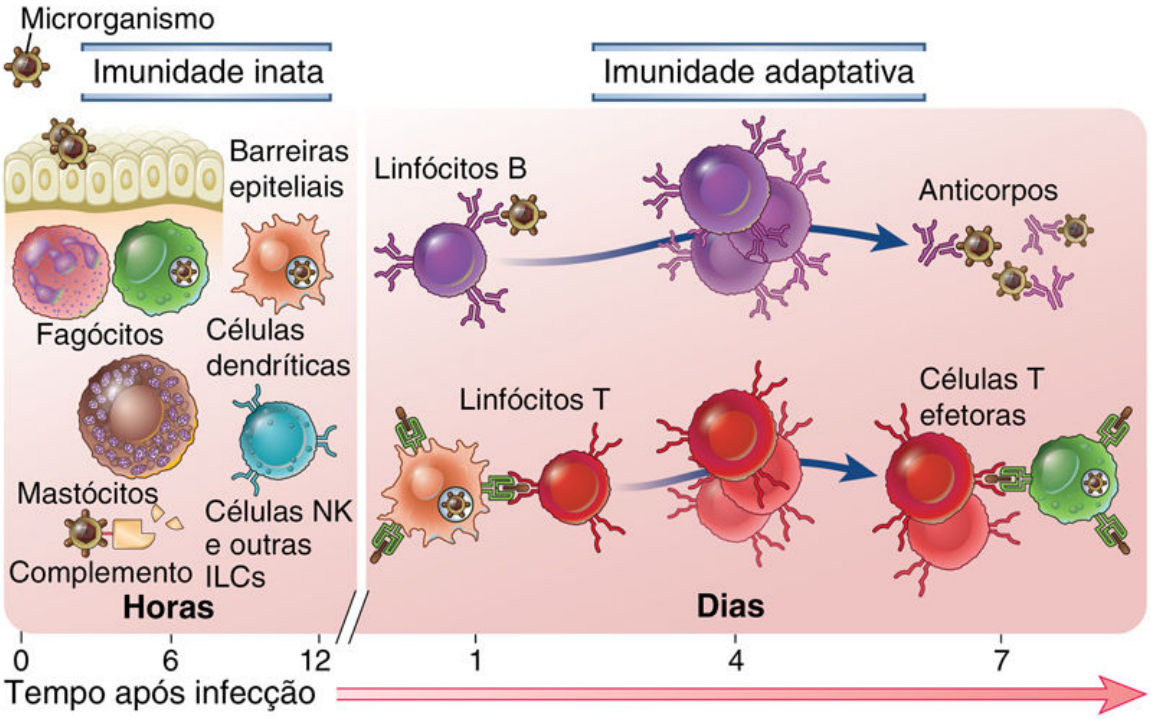


FIGURA 1.1 Imunidade inata e adaptativa.
Os mecanismos da imunidade inata fornecem a defesa inicial contra infecções. As respostas imunes adaptativas se desenvolvem posteriormente e necessitam de ativação dos linfócitos. A cinética das respostas imunes inata e adaptativa são aproximações e podem variar em diferentes infecções. Somente tipos celulares selecionados são mostrados. *ILC*, célula linfoide inata; *NK*, *natural killer*.

Tabela 1.2

Características da Imunidade Inata e Adaptativa

	Inata	Adaptativa
Características		
Especificidade	Para moléculas compartilhadas por grupos de microrganismos relacionados e moléculas produzidas por células lesadas do hospedeiro	Para antígenos microbianos e não microbianos
Diversidade	Limitada; reconhecimento de moléculas codificadas por genes herdados (da linhagem germinativa)	Muito ampla; genes dos receptores são formados por recombinação somática de segmentos gênicos nos linfócitos
Memória	Nenhuma ou limitada	Sim
Não reatividade ao próprio	Sim	Sim
Componentes		
Barreiras celulares e químicas	Pele, epitélios de mucosa; moléculas antimicrobianas	Linfócitos nos epitélios; anticorpos secretados nas superfícies epiteliais
Proteínas sanguíneas	Complemento, várias lectinas e aglutininas	Anticorpos
Células	Fagócitos (macrófagos, neutrófilos), células dendríticas, células *natural killer*, mastócitos, células linfoides inatas	Linfócitos

Em contraste à imunidade inata, há outras respostas imunes que são estimuladas pela exposição a agentes infecciosos e que aumentam em magnitude e capacidades defensivas após cada exposição sucessiva a um microrganismo em particular. Uma vez que essa forma de imunidade se desenvolve em resposta à infecção e a ela se adapta, é denominada **imunidade adaptativa** (também chamada **imunidade específica** ou **imunidade adquirida**). O sistema imune adaptativo reconhece e reage a um grande número de substâncias microbianas e não microbianas chamadas **antígenos**. Embora muitos patógenos tenham evoluído de maneira a resistir à resposta imune inata, as respostas imunes adaptativas, sendo mais fortes e mais especializadas, são capazes de erradicar até mesmo essas infecções. Também existem numerosas conexões entre as

respostas imunes inata e adaptativa. A resposta imune inata aos microrganismos fornece os primeiros sinais de perigo que estimulam as respostas imunes adaptativas. Por outro lado, as resposta imunes adaptativas frequentemente trabalham intensificando os mecanismos protetores da imunidade inata, tornando-os mais capazes de combater efetivamente os microrganismos.

O sistema imune de cada indivíduo é capaz de reconhecer, responder e eliminar muitos antígenos estranhos (não próprios), mas normalmente não reage contra antígenos e tecidos do próprio indivíduo. Diferentes mecanismos são usados pelos sistemas imunes inato e adaptativo para prevenir reações contra células próprias sadias.

Em decorrência da capacidade de linfócitos e de outras células imunes em circular pelos tecidos, a imunidade é sistêmica. Isso significa que uma resposta imune iniciada em um local poderá conferir proteção em locais distantes. Essa característica é, obviamente, essencial para o sucesso da vacinação — uma vacina administrada no tecido subcutâneo ou muscular do braço pode proteger contra infecções em qualquer tecido.

As respostas imunes são reguladas por um sistema de alças de feedback positivo que amplificam a reação e por mecanismos de controle que previnem reações inapropriadas ou patológicas. Quando ativados, os linfócitos disparam mecanismos que aumentam ainda mais a magnitude da resposta. Esse *feedback* positivo é importante para capacitar o pequeno número de linfócitos, que são específicos para qualquer microrganismo, a gerarem a ampla resposta necessária à erradicação daquela infecção. Muitos mecanismos de controle se tornam ativos durante as respostas imunes e previnem a ativação excessiva dos linfócitos, o que poderia causar dano colateral aos tecidos normais, além de prevenirem respostas contra os autoantígenos.

Mecanismos de defesa do hospedeiro contra microrganismos estão presentes em todos os organismos multicelulares. Os mecanismos filogeneticamente mais antigos de defesa do hospedeiro são aqueles da imunidade inata, presentes até mesmo em plantas e insetos. Há cerca de 500 milhões de anos, peixes sem mandíbulas, tais como lampreias e peixes-bruxa, desenvolveram um sistema imune contendo células parecidas com linfócitos que deviam funcionar como os linfócitos encontrados em espécies mais avançadas e até responder à imunização. Os receptores antigênicos nessas células são proteínas com variabilidade limitada, capazes de reconhecer muitos antígenos, porém distintos dos anticorpos e receptores de células T, os quais são altamente variáveis e surgiram mais tardiamente na evolução. Os mecanismos de defesa mais especializados

que constituem a imunidade adaptativa são encontrados somente em vertebrados. A maior parte dos componentes do sistema imune adaptativo, incluindo linfócitos com receptores antigênicos altamente diversos, anticorpos e tecidos linfoides especializados, evoluiu coordenadamente dentro de um curto espaço de tempo nos vertebrados mandibulados (p. ex.: tubarões) há aproximadamente 360 milhões de anos.

Imunidade Inata: a Defesa Inicial

O sistema imune inato responde quase imediatamente a microrganismos e células lesadas, e repetidas exposições invocam respostas imunes inatas praticamente idênticas. Os receptores da imunidade inata são específicos para estruturas que são comuns a grupos de microrganismos relacionados e não distinguem pequenas diferenças entre microrganismos. Os principais componentes da imunidade inata são (1) barreiras físicas e químicas, tais como os epitélios e os agentes antimicrobianos produzidos nas superfícies epiteliais; (2) células fagocíticas (neutrófilos, macrófagos), células dendríticas (DCs, do inglês, *dendritic cells*), mastócitos, células *natural killer* (células NK) e outras células linfoides inatas; e (3) proteínas sanguíneas, incluindo componentes do sistema complemento e outros mediadores da inflamação. Muitas células da imunidade inata, tais como macrófagos, DCs e mastócitos, estão sempre presentes na maioria dos tecidos, onde atuam como sentinelas em busca de microrganismos invasores. A resposta imune inata combate microrganismos por meio de duas reações principais — pelo recrutamento de fagócitos e outros leucócitos que destroem os microrganismos, no processo chamado **inflamação**; e pelo bloqueio da replicação viral ou pelo *killing* de células infectadas por vírus, sem a necessidade de uma reação inflamatória. Discutiremos características, mecanismos e componentes da imunidade inata no Capítulo 4.

Imunidade Adaptativa

A resposta imune adaptativa é mediada por células chamadas linfócitos e seus produtos. Os linfócitos expressam receptores altamente diversos que são capazes de reconhecer um vasto número de antígenos. Há duas populações principais de linfócitos, denominadas **linfócitos B** e **linfócitos T**, os quais medeiam diferentes tipos de respostas imunes adaptativas. Iremos primeiro resumir as importantes propriedades do sistema imune adaptativo e então retornaremos aos diferentes tipos de respostas imunes adaptativas.

Características Fundamentais das Respostas Imunes Adaptativas

As propriedades fundamentais do sistema imune adaptativo refletem as propriedades dos linfócitos que medeiam essas respostas.

- ***Especificidade e diversidade***. Respostas imunes são específicas para antígenos distintos e, frequentemente, para diferentes porções de um único complexo proteico, polissacarídico ou de outra macromolécula (Fig. 1.2). As porções de antígenos complexos especificamente reconhecidas por linfócitos individuais são denominadas **determinantes** ou **epítopos**. Essa especificidade fina existe porque os linfócitos individuais expressam receptores de membrana que podem distinguir diferenças sutis na estrutura de epítopos distintos. Clones de linfócitos com diferentes especificidades estão presentes em indivíduos não imunizados e são capazes de reconhecer e responder aos antígenos estranhos (Fig. 1.3). Esse conceito fundamental é denominado **seleção clonal** e foi claramente enunciado por Macfarlane Burnet, em 1957, como uma hipótese para explicar de que modo o sistema imune poderia responder a um grande número e variedade de antígenos. De acordo com essa hipótese, a qual é hoje uma característica comprovada da imunidade adaptativa, clones de linfócitos antígeno-específicos se desenvolvem antes e independentemente da exposição ao antígeno. Um antígeno introduzido se liga (seleciona) às células do clone antígeno-específico preexistente e as ativa. Como resultado, as células específicas para o antígeno

proliferam para gerar milhares de descendentes com a mesma especificidade, um processo chamado **expansão clonal**. O número total de especificidades antigênicas dos linfócitos em um indivíduo, chamado repertório dos linfócitos, é extremamente grande. Estima-se que o sistema imune de um indivíduo possa discriminar 10^7 a 10^9 determinantes antigênicos distintos. Essa capacidade do repertório de linfócitos para reconhecer um grande número de antígenos (a chamada **diversidade**) é resultado da variabilidade nas estruturas dos sítios de ligação ao antígeno dos receptores antigênicos dos linfócitos. Em outras palavras, existem muitos clones distintos de linfócitos e cada clone possui um único receptor antigênico e, consequentemente, uma única especificidade antigênica, contribuindo para um repertório total extremamente diverso. A expressão de diferentes receptores antigênicos em distintos clones de células T e B é a razão pela qual esses receptores são ditos clonalmente distribuídos. Os mecanismos moleculares que geram tal diversidade de receptores antigênicos são discutidos no Capítulo 8. A diversidade é essencial se o sistema imune existe para defender os indivíduos contra os diversos potenciais patógenos presentes no ambiente.

- ***Memória***. A exposição do sistema imune a um antígeno estranho aumenta sua capacidade de responder novamente àquele antígeno. As respostas a uma segunda exposição ou exposições subsequentes ao mesmo antígeno, chamadas respostas imunes secundárias, são normalmente mais rápidas, de maior magnitude e, com frequência, quantitativamente diferentes da primeira resposta imune (ou primária) àquele antígeno (Fig. 1.2). A memória imunológica ocorre porque cada exposição a um antígeno gera *células de memória* de vida longa específicas para o antígeno. Há duas razões pelas quais a resposta secundária é tipicamente mais forte do que a resposta imune primária — as células de memória se acumulam e tornam-se mais numerosas do que os linfócitos *naive* específicos para o antígeno existentes no momento da exposição inicial ao antígeno; e células de memória reagem mais rápida e vigorosamente ao desafio antigênico do que os linfócitos *naive*. A memória permite que o sistema imune produza respostas aumentadas a exposições persistentes ou recorrentes ao mesmo antígeno e, assim, combata infecções por microrganismos prevalentes no meio ambiente e encontrados repetidamente.

- ***Não reatividade ao próprio (autotolerância)***. Uma das propriedades mais marcantes do sistema imune de cada indivíduo normal é sua capacidade de reconhecer, responder e eliminar muitos antígenos estranhos (não próprios) enquanto não reage prejudicialmente aos antígenos do próprio indivíduo. A não responsividade imunológica é também chamada de **tolerância**. A tolerância aos antígenos próprios, ou autotolerância, é mantida por diversos mecanismos. Estes incluem a eliminação de linfócitos que expressam receptores específicos para alguns autoantígenos, inativando os linfócitos autorreativos ou suprimindo essas células pela ação de outras células (reguladoras). Anormalidades na indução ou manutenção da autotolerância levam a respostas imunes contra os autoantígenos (antígenos autólogos), as quais podem resultar em distúrbios denominados **doenças autoimunes**. Os mecanismos de autotolerância e suas falhas são discutidos no Capítulo 15.

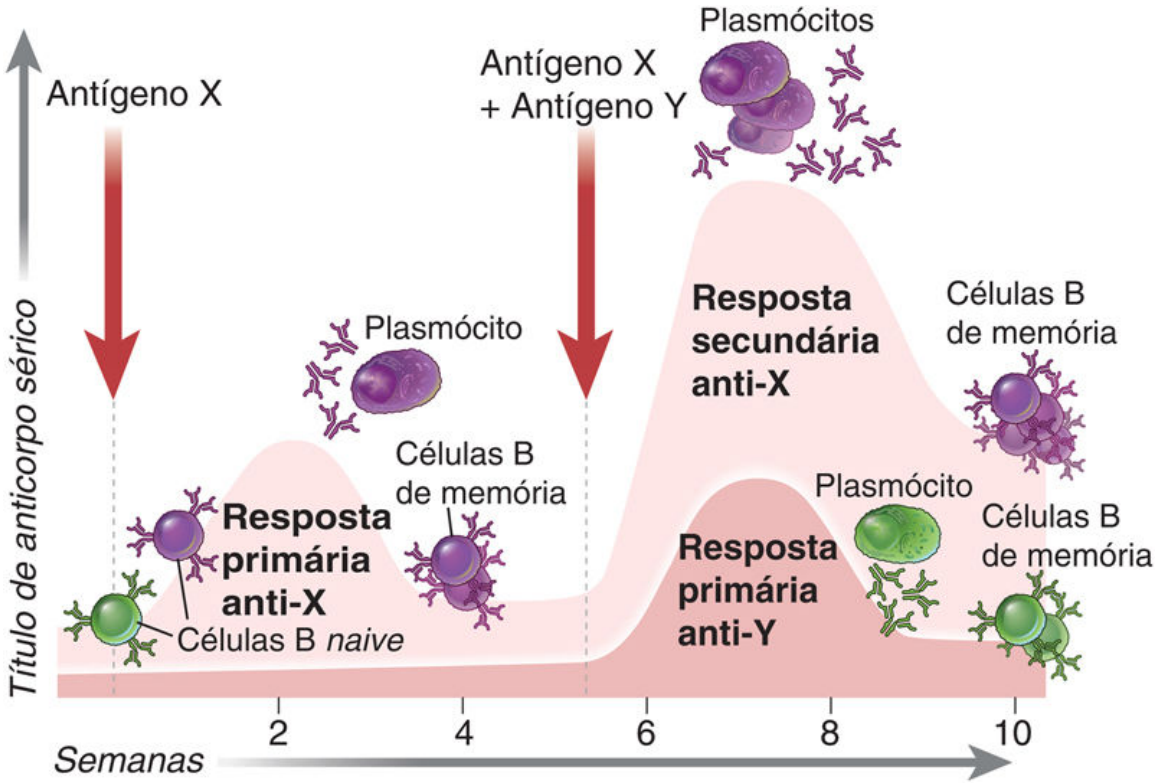


FIGURA 1.2 Especificidade, memória e contração das respostas imunes adaptativas.
Antígenos X e Y induzem a produção de diferentes anticorpos (especificidade). A resposta secundária ao antígeno X é mais rápida e maior do que a resposta primária (memória). Os níveis de anticorpos declinam com o tempo após cada imunização (contração, o processo que mantém a homeostasia). As mesmas características são vistas nas respostas imunes mediadas por células.

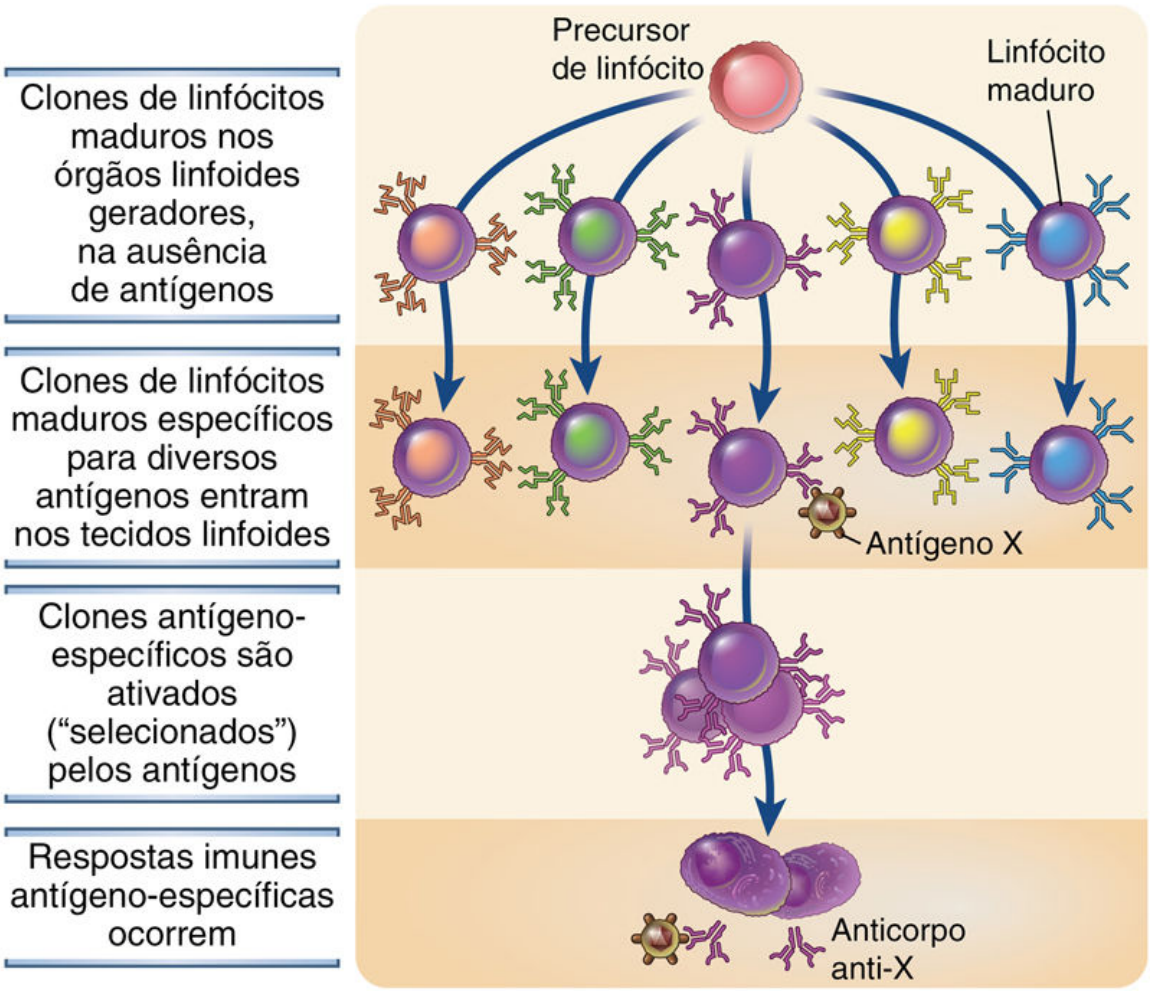


FIGURA 1.3 Seleção clonal.
Cada antígeno (*X*) seleciona um clone preexistente de linfócitos específicos e estimula a proliferação e diferenciação daquele clone. O diagrama mostra somente linfócitos B dando origem a células efetoras secretoras de anticorpos, mas o mesmo princípio se aplica aos linfócitos T.

Visão Geral da Imunidade Humoral e Mediada por Células

Existem dois tipos de respostas imunes adaptativas, denominadas imunidade humoral e imunidade mediada por células, as quais são induzidas por diferentes tipos de linfócitos e atuam para eliminar diferentes tipos de microrganismos (Figs. 1.4 e 1.5). A **imunidade humoral** é mediada por moléculas no sangue e em secreções mucosas, denominadas **anticorpos**, os quais são produzidos pelos **linfócitos B**. Os

anticorpos reconhecem antígenos microbianos, neutralizam a infectividade dos microrganismos e marcam microrganismos para sua eliminação pelos fagócitos e pelo sistema complemento. A imunidade humoral é o principal mecanismo de defesa contra os microrganismos e suas toxinas, localizados fora das células (p. ex.: no lúmen dos tratos gastrintestinal e respiratório, e no sangue), uma vez que os anticorpos secretados podem se ligar a esses microrganismos e toxinas, neutralizando-os, além de auxiliar na sua eliminação.

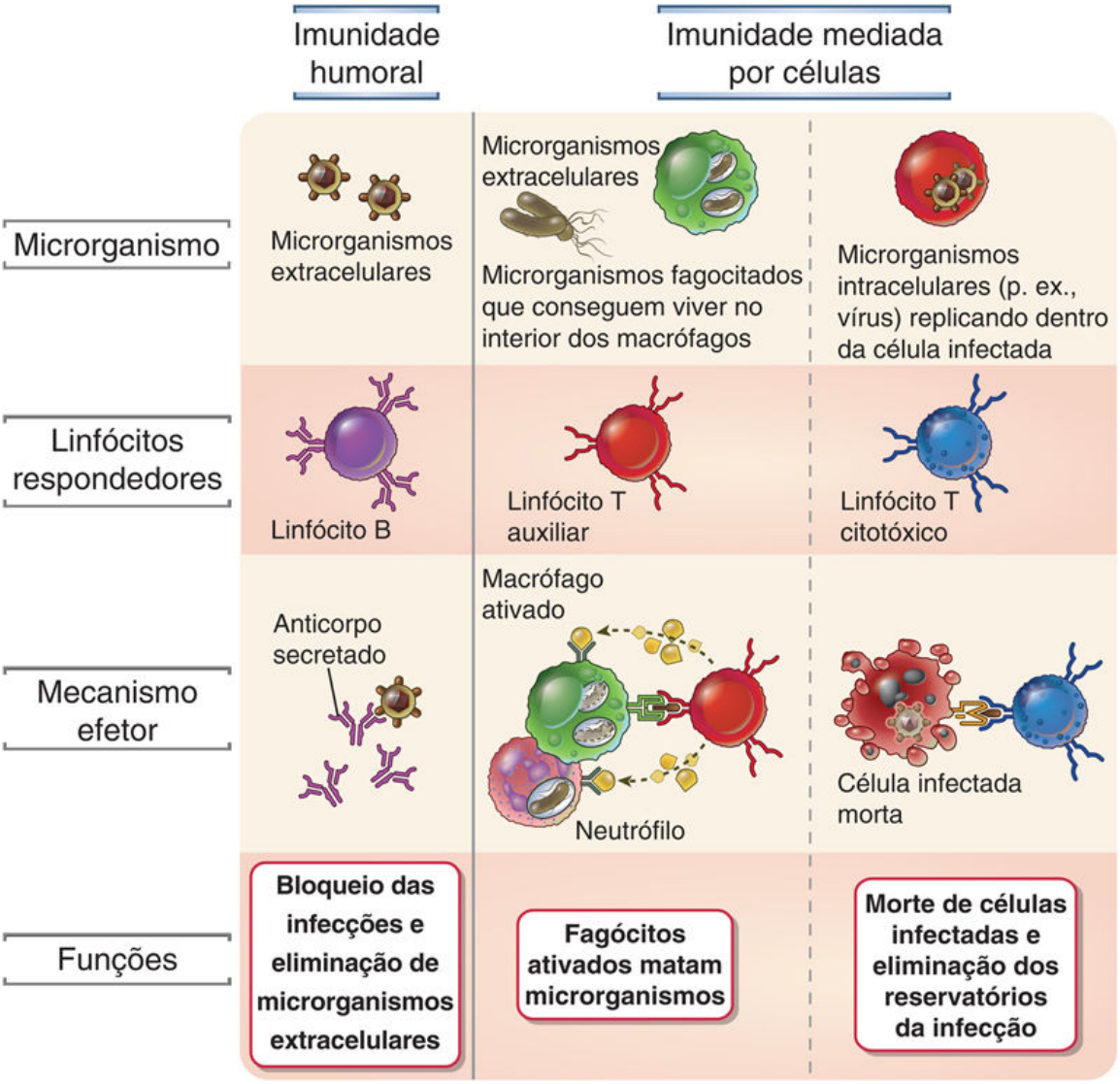


FIGURA 1.4 Tipos de imunidade adaptativa.
Na imunidade humoral, os linfócitos B secretam anticorpos que previnem as infecções e eliminam os microrganismos extracelulares. Na imunidade mediada por células, os linfócitos T auxiliares ativam macrófagos e neutrófilos para matar microrganismos fagocitados, ou linfócitos T citotóxicos destroem diretamente as células infectadas.

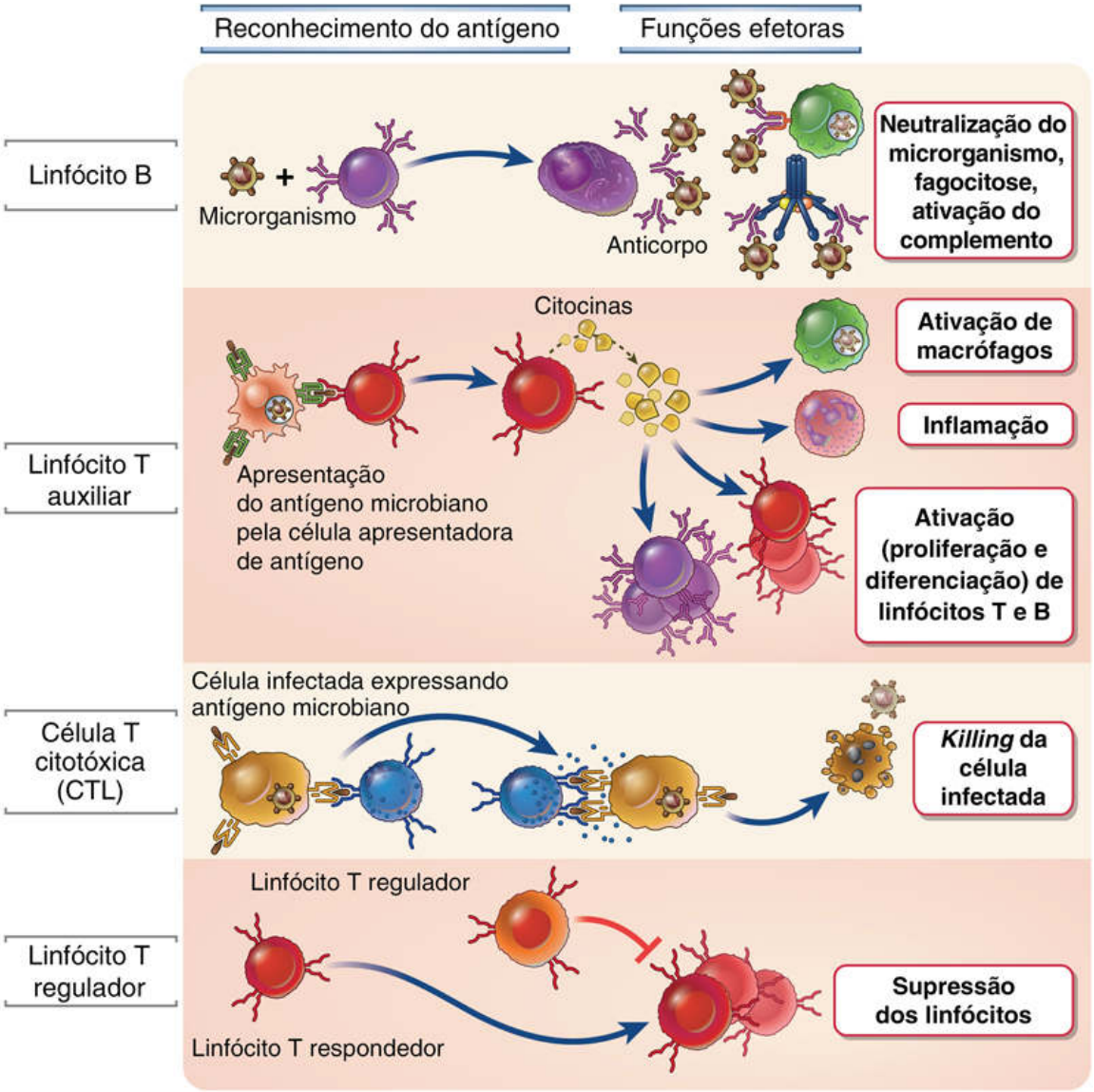


FIGURA 1.5 Classes de linfócitos.
Os linfócitos B reconhecem muitos tipos de antígenos e se desenvolvem em células secretoras de antígenos. Os linfócitos T auxiliares reconhecem antígenos nas superfícies das células apresentadoras de antígenos e secretam citocinas, as quais estimulam diferentes mecanismos de imunidade e inflamação. Os linfócitos T citotóxicos reconhecem antígenos em células infectadas e matam essas células. As células T reguladoras suprimem as respostas imunes (p. ex.: aos antígenos próprios).

A **imunidade mediada por células**, também denominada **imunidade celular**, é mediada pelos **linfócitos T**. Muitos microrganismos são ingeridos, mas sobrevivem dentro dos fagócitos, e alguns, particularmente os vírus, infectam e se replicam em diversas células do hospedeiro. Nesses

locais, os microrganismos são inacessíveis aos anticorpos circulantes. A defesa contra tais infecções é uma função da imunidade mediada por células, a qual promove a destruição de microrganismos dentro dos fagócitos e a morte das células infectadas para eliminar os reservatórios da infecção.

A imunidade protetora contra um microrganismo normalmente pode ser fornecida tanto pela resposta do hospedeiro ao microrganismo quanto pela transferência de anticorpos que defendem contra o microrganismo (Fig. 1.6). A forma de imunidade induzida pela exposição a um antígeno estranho é chamada **imunidade ativa**, porque o indivíduo imunizado tem papel ativo na resposta ao antígeno. Indivíduos e linfócitos que nunca encontraram um antígeno particular são considerados *naive*, implicando que ambos são imunologicamente inexperientes. Indivíduos que responderam a um antígeno microbiano e estão protegidos de exposições subsequentes àquele microrganismo são ditos *imunes*.

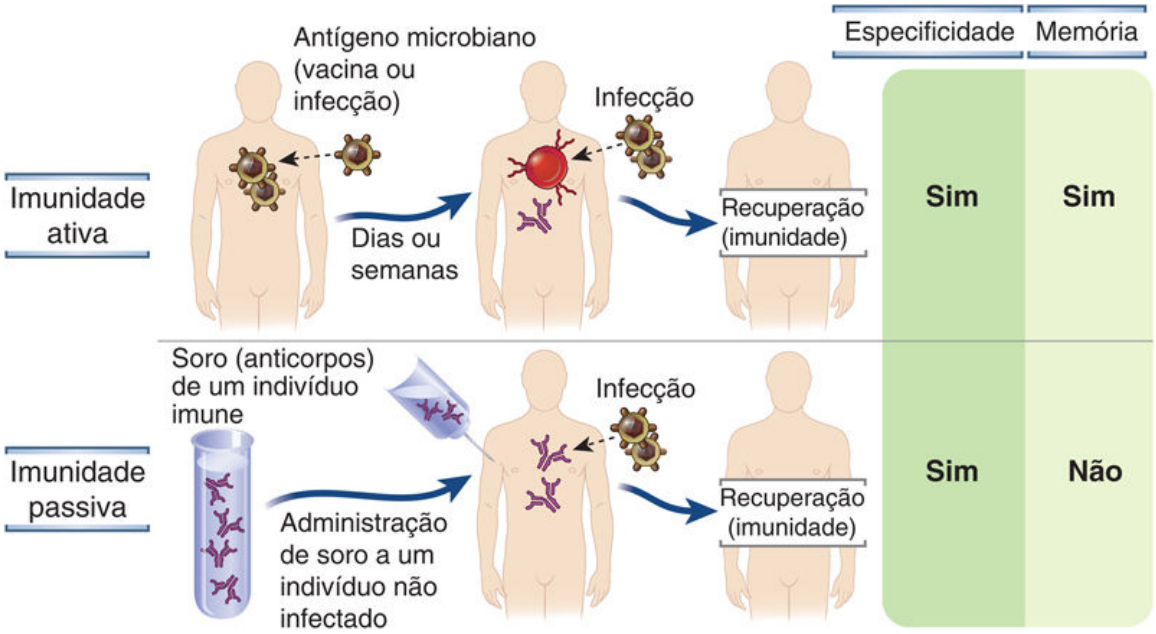


FIGURA 1.6 Imunidade ativa e passiva.
A imunidade ativa é conferida pela resposta do hospedeiro a um microrganismo ou antígeno microbiano, enquanto a imunidade passiva é conferida pela transferência adotiva de anticorpos ou de linfócitos T específicos para o microrganismo. Ambas as formas de imunidade conferem resistência à infecção e são específicas para antígenos microbianos, mas somente as respostas imunes ativas geram memória imunológica. A transferência terapêutica passiva de anticorpos, mas não de linfócitos, é realizada rotineiramente e também ocorre durante a gravidez (da mãe para o feto).

A imunidade também pode ser conferida a um indivíduo pela transferência de anticorpos de um indivíduo imunizado para um indivíduo que nunca encontrou o antígeno (Fig. 1.6). O receptor de tal transferência se torna imune ao antígeno em particular sem nunca ter sido exposto nem ter respondido àquele antígeno. Portanto, essa forma de imunização é chamada de **imunidade passiva**. Um exemplo fisiologicamente importante de imunidade passiva é a transferência de anticorpos maternos através da placenta para o feto, a qual permite aos recém-nascidos o combate a infecções por vários meses antes que eles próprios desenvolvam a capacidade de produzir anticorpos. A imunização passiva é também um método útil na medicina por conferir resistência rapidamente, sem a necessidade de esperar pelo desenvolvimento de uma resposta imune ativa. A imunização passiva contra toxinas potencialmente letais pela administração de anticorpos de animais ou pessoas imunizadas é um tratamento que salva vidas em infecções rábicas ou picadas por serpentes. Pacientes com algumas doenças de imunodeficiências genéticas

são imunizadas passivamente pela transferência de um *pool* de anticorpos de doadores saudáveis.

A primeira demonstração de imunidade humoral foi feita por Emil von Behring e Shibasaburo Kitasato, em 1890, usando uma estratégia de imunização passiva. Eles mostraram que se o soro de animais que haviam sido imunizados com uma forma atenuada de toxina diftérica fosse transferido a animais *naive*, os receptores se tornavam resistentes especificamente à infecção diftérica. Os componentes ativos do soro foram chamados antitoxinas, porque neutralizaram os efeitos patológicos da toxina diftérica. Esse resultado levou ao tratamento da infecção diftérica, até então letal, pela administração da antitoxina, uma realização que foi reconhecida pelo primeiro Prêmio Nobel em Fisiologia ou Medicina concedido para von Behring. Na década de 1890, Paul Ehrlich postulou que as células imunes utilizam receptores, a que chamou cadeias laterais, para reconhecer toxinas microbianas e, subsequentemente, secretá-los para combater microrganismos. Ele também cunhou o termo *anticorpos* (do alemão *antikörper*) para designar as proteínas séricas que se ligam a substâncias estranhas, tais como toxinas, enquanto as substâncias que geraram os anticorpos foram denominadas *antígenos*. A definição moderna de antígenos inclui substâncias que se ligam a receptores específicos em linfócitos, quer estimulem ou não respostas imunes. De acordo com definições estritas, substâncias que estimulam as respostas imunes são chamadas *imunógenos*, embora o termo antígeno seja frequentemente usado de forma intercambiável com imunógeno. As propriedades dos anticorpos e antígenos são descritas no Capítulo 5. Os conceitos de Ehrlich representam um modelo extraordinariamente preditivo para a especificidade da imunidade adaptativa. Esses estudos iniciais dos anticorpos levaram à aceitação geral da teoria humoral da imunidade, de acordo com a qual a defesa do hospedeiro contra infecções é mediada por substâncias presentes nos fluidos corporais (então chamados humores).

Élie Metchnikoff inicialmente defendeu a teoria celular da imunidade, a qual afirmava que as células do hospedeiro são os principais mediadores da imunidade. Sua demonstração dos fagócitos ao redor de um espinho introduzido em uma larva translúcida de estrela do mar, publicada em 1883, foi talvez a primeira evidência experimental de que as células respondem a invasores estranhos. Ehrlich e Metchnikoff dividiram o Prêmio Nobel em 1908, em reconhecimento às suas contribuições para o estabelecimento desses princípios fundamentais da imunidade. A observação de Sir Almroth Wright, no início dos anos 1900, de que fatores no soro imune aumentaram a fagocitose de bactérias ao recobri-las, um

processo conhecido como **opsonização**, deu suporte à convicção de que os anticorpos preparam os microrganismos para a ingestão pelos fagócitos. Esses "celularistas" iniciais não foram capazes de provar que a imunidade específica aos microrganismos poderia ser mediada pelas células. A importância da imunidade celular na defesa do hospedeiro se consolidou na década de 1950, quando foi mostrado que a resistência a uma bactéria intracelular, *Listeria monocytogenes*, poderia ser transferida a animais pelas células, mas não pelo soro. Atualmente, sabemos que a especificidade da imunidade mediada por células é devida aos linfócitos, os quais frequentemente atuam em conjunto com outras células, como os fagócitos, para eliminar os microrganismos.

No cenário clínico, a imunidade a um microrganismo previamente encontrado é avaliada indiretamente, tanto por ensaios que detectam a presença de produtos das respostas imunes (tais como anticorpos séricos específicos para antígenos microbianos) quanto pela administração de substâncias purificadas de microrganismos, e avaliando as reações a essas substâncias. A reação a um antígeno é detectável somente em indivíduos que entraram previamente em contato com o antígeno (a reação no momento do primeiro contato é normalmente muito pequena para ser detectada). Esses indivíduos são ditos *sensibilizados* ao antígeno, e a reação é uma indicação de *sensibilidade*. Tal reação a um antígeno microbiano implica que o indivíduo sensibilizado seja capaz de montar uma resposta protetora ao microrganismo.

Iniciação e Desenvolvimento das Respostas Imunes Adaptativas

As respostas imunes adaptativas se desenvolvem em diversas etapas, iniciando pela captura do antígeno, seguida pela ativação de linfócitos específicos (Fig. 1.7).

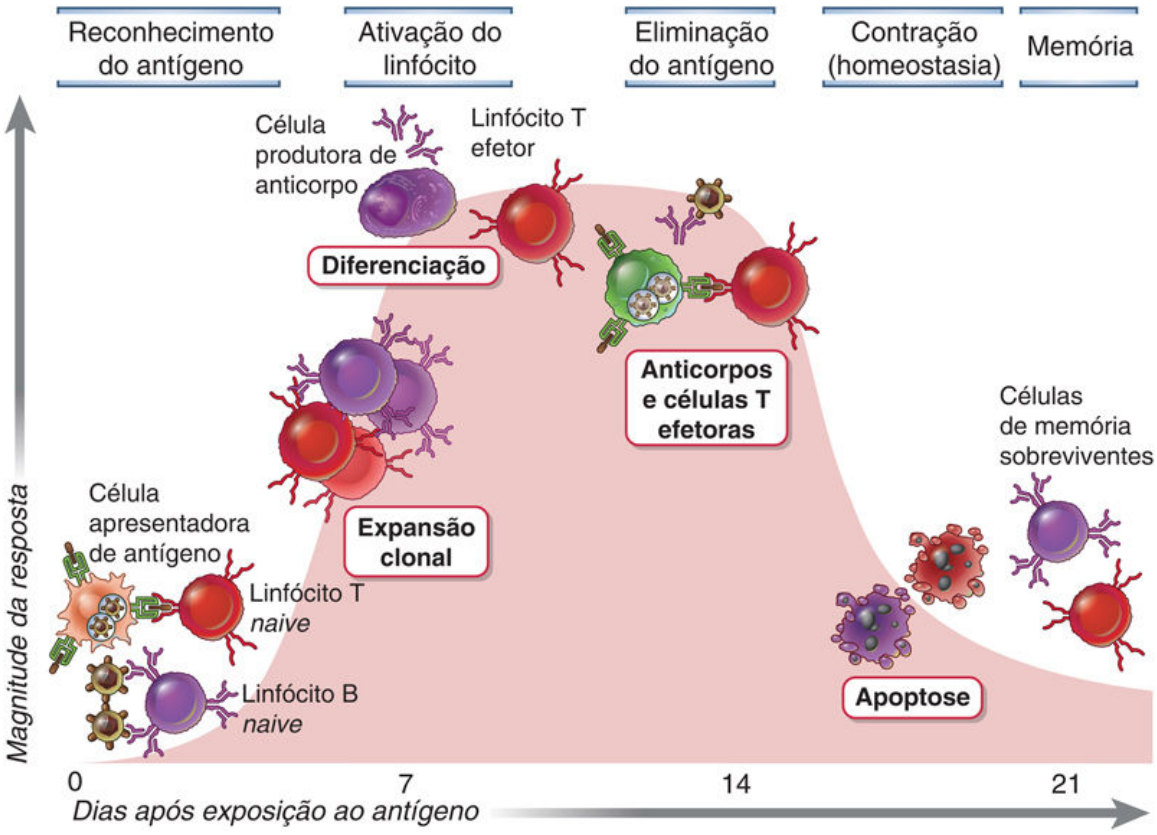


FIGURA 1.7 Desenvolvimento das respostas imunes adaptativas.
As respostas imunes adaptativas consistem em passos distintos, sendo os três primeiros o reconhecimento do antígeno, a ativação dos linfócitos e a eliminação do antígeno (fase efetora). A resposta se contrai (declina) à medida que os linfócitos estimulados pelos antígenos morrem por apoptose, restaurando a homeostasia, e as células antígeno-específicas que sobrevivem são responsáveis pela memória. A duração de cada fase pode variar em diferentes respostas imunes. O eixo *y* representa uma medida arbitrária da magnitude da resposta. Esses princípios se aplicam à imunidade humoral (mediada por linfócitos B) e à imunidade mediada por células (mediada por linfócitos T).

A maioria dos microrganismos e outros antígenos entram no organismo através das barreiras epiteliais, e as respostas imunes adaptativas a esses antígenos se desenvolvem em órgãos linfoides periféricos (secundários). A iniciação das respostas imunes adaptativas requer que os antígenos sejam capturados e expostos aos linfócitos específicos. As células que realizam essa função são chamadas **células apresentadoras de antígeno** (APCs, do inglês, *antigen-presenting cells*). As APCs mais especializadas são as **células dendríticas**, as quais capturam antígenos microbianos que entram no

organismo a partir do ambiente externo, transportam esses antígenos aos órgãos linfoides e os apresentam aos linfócitos T *naive* para iniciar as respostas imunes. Outros tipos celulares atuam como APCs em diferentes estágios das respostas imunes humorais e mediadas por células. Descreveremos as funções das APCs no Capítulo 6.

Os linfócitos que nunca responderam ao antígeno são chamados *naive*. A ativação desses linfócitos pelo antígeno leva à proliferação dessas células, resultando em um aumento no número de clones antígeno-específicos, denominado *expansão clonal*. Esse processo é seguido pela diferenciação dos linfócitos ativados em células capazes de eliminar o antígeno, as quais são chamadas *células efetoras* porque medeiam o efeito final da resposta imune, e em células de memória, que sobrevivem por longos períodos e montam fortes respostas após encontros repetidos com o antígeno. A eliminação do antígeno frequentemente requer a participação de outras células não linfoides, tais como macrófagos e neutrófilos, as quais por vezes são chamadas células efetoras. Esses passos da ativação dos linfócitos tipicamente demoram alguns dias, o que explica porque a resposta imune adaptativa desenvolve-se de maneira lenta e há a necessidade de a imunidade inata inicialmente conferir proteção.

Uma vez que a resposta imune adaptativa tenha erradicado a infecção, o estímulo para a ativação dos linfócitos se dissipa e a maior parte das células efetoras morrem, resultando no declínio da resposta. As células de memória permanecem, prontas para responder vigorosamente se a mesma infecção se repetir.

As células do sistema imune interagem umas com as outras e com outras células do hospedeiro durante os estágios de iniciação e efetor das respostas imunes inata e adaptativa. Muitas dessas interações são mediadas pelas citocinas. As **citocinas** constituem um amplo grupo de proteínas secretadas com diversas estruturas e funções, as quais regulam e coordenam muitas atividades das células da imunidade inata e adaptativa. Todas as células do sistema imune secretam pelo menos algumas citocinas e expressam receptores de sinalização específicos para diversas citocinas. Entre as muitas funções das citocinas que discutiremos ao longo deste livro, estão a promoção de crescimento e diferenciação das células imunes, ativação das funções efetoras de linfócitos e fagócitos, e estimulação de movimento direcionado das células imunes a partir do sangue para os tecidos e dentro dos tecidos. Um grande subgrupo de citocinas estruturalmente relacionadas que regulam a migração e o movimento celular são conhecidas como **quimiocinas**. Alguns dos fármacos mais efetivos desenvolvidos para tratar doenças imunológicas têm como alvo as

citocinas, o que reflete a importância dessas proteínas nas respostas imunes. Descreveremos as funções de citocinas individuais quando discutirmos as respostas imunes nas quais essas proteínas exercem papéis importantes.

Imunidade Humoral

Linfócitos B que reconhecem antígenos proliferam e se diferenciam em plasmócitos que secretam diferentes classes de anticorpos com funções distintas. Cada clone de células B expressa um receptor antigênico de superfície celular, o qual é uma forma de anticorpo ligado à membrana, com uma especificidade antigênica única. Diferentes tipos de antígenos, incluindo proteínas, polissacarídeos, lipídeos e moléculas pequenas, são capazes de elicitar respostas de anticorpos. A resposta das células B aos antígenos proteicos requer sinais de ativação (auxílio) das células T $CD4^+$ (esta é a razão histórica pela qual chamamos essas células T de células *auxiliares*). As células B podem responder a vários antígenos não proteicos sem a participação de células T auxiliares. Cada plasmócito secreta anticorpos que têm o mesmo sítio de ligação ao antígeno, uma vez que é o receptor antigênico da superfície celular que primeiro reconheceu o antígeno. Polissacarídeos e lipídeos estimulam a secreção principalmente do anticorpo da classe denominada imunoglobulina M (IgM). Antígenos proteicos induzem a produção de anticorpos de diferentes classes (IgG, IgA, IgE) a partir de um único clone de células B. Essas diferentes classes de anticorpos servem a funções distintas, mencionadas adiante. Células T auxiliares também estimulam a produção de anticorpos com afinidade aumentada ao antígeno. Esse processo, chamado maturação de afinidade, melhora a qualidade da resposta imune humoral.

A resposta imune humoral combate microrganismos de várias maneiras. Os anticorpos se ligam aos microrganismos e os impedem de infectar as células, assim neutralizando-os. De fato, a neutralização mediada por anticorpos é o único mecanismo da imunidade adaptativa que detém uma infecção antes que ela se estabeleça; esta é a razão pela qual a elicitação da produção de anticorpos potentes é um objetivo-chave da vacinação. Anticorpos IgG recobrem os microrganismos e os marcam para a fagocitose, porque os fagócitos (neutrófilos e macrófagos) expressam receptores para partes das moléculas de IgG. O sistema complemento é ativado por IgM e IgG e os produtos do complemento promovem a fagocitose e a destruição dos microrganismos. A IgA é secretada pelo epitélio da mucosa e neutraliza microrganismos no lúmen dos tecidos de

mucosa, tais como os tratos respiratório e gastrintestinal, prevenindo assim que os microrganismos inalados e ingeridos infectem o hospedeiro. A IgG materna é ativamente transportada através da placenta e protege o recém-nascido até que o sistema imune do bebê se torne maduro. A maior parte dos anticorpos IgG tem meia-vida na circulação de aproximadamente 3 semanas, enquanto outras classes de anticorpos têm meias-vidas de apenas poucos dias. Alguns plasmócitos secretores de anticorpos migram para a medula óssea ou tecidos de mucosa e vivem por anos, produzindo continuamente baixos níveis de anticorpos. Os anticorpos secretados por esses plasmócitos de vida longa fornecem proteção imediata se o microrganismo reinfectar o indivíduo. Uma proteção mais efetiva é fornecida pelas células de memória, que são ativadas pelo microrganismo e rapidamente se diferenciam para gerar grandes números de plasmócitos.

Imunidade Mediada por Células

Os linfócitos T, células da imunidade celular, reconhecem os antígenos dos microrganismos associados às células e diferentes tipos de células T auxiliam os fagócitos a destruir esses microrganismos ou matar as células infectadas. As células T não produzem moléculas de anticorpo. Seus receptores antigênicos são moléculas de membrana distintas, mas estruturalmente relacionadas aos anticorpos (Capítulo 7). Os linfócitos T têm uma especificidade restrita para antígenos; eles reconhecem peptídeos derivados das proteínas estranhas que estão ligadas às proteínas do hospedeiro denominadas **complexo principal de histocompatibilidade** (MHC, do inglês, *major histocompatibility complex*), as quais são expressas nas superfícies de outras células. Como resultado, essas células T reconhecem e respondem aos antígenos associados à superfície celular, mas não aos antígenos solúveis (Capítulo 6).

Os linfócitos T consistem em populações funcionalmente distintas, dentre as quais as mais bem definidas são as **células T auxiliares** e os **linfócitos T citotóxicos** ou **citolíticos** (CTLs, do inglês, *cytotoxic T lymphocytes*). As funções das células T auxiliares são mediadas principalmente pela secreção de citocinas, enquanto os CTLs produzem moléculas que matam outras células. Alguns linfócitos T, denominados **células T reguladoras**, atuam principalmente na inibição das respostas imunes. Retornaremos a uma discussão mais detalhada sobre as propriedades dos linfócitos no Capítulo 2 e em capítulos posteriores. Diferentes classes de linfócitos podem ser distinguidas pela expressão de

proteínas de superfície celular, muitas das quais são denominadas por um único número "CD" (do inglês, *cluster of differentiation* – Capítulo 2), tais como CD4 ou CD8.

Após a ativação nos órgãos linfoides secundários, os linfócitos T *naive* se diferenciam em células efetoras e muitas destas migram para os sítios de infecção. Quando essas células T efetoras encontram novamente os microrganismos associados a células, são ativadas e realizam as funções responsáveis pela eliminação dos microrganismos. Algumas células T auxiliares $CD4^+$ secretam citocinas que recrutam leucócitos e estimulam a produção de substâncias microbicidas nos fagócitos. Assim, essas células T auxiliam os fagócitos a matar os patógenos infecciosos. Outras células T auxiliares $CD4^+$ secretam citocinas que ajudam as células B a produzir um tipo de anticorpo chamado IgE e ativam leucócitos chamados eosinófilos, os quais são capazes de matar parasitas grandes demais para serem fagocitados. Algumas células T auxiliares $CD4^+$ permanecem nos órgãos linfoides e estimulam respostas de células B.

CTLs $CD8^+$ matam as células que abrigam microrganismos no citoplasma. Esses microrganismos podem ser vírus que infectam muitos tipos celulares ou bactérias que são ingeridas pelos macrófagos, mas escapam das vesículas fagocíticas no citoplasma (onde são inacessíveis à maquinaria de morte dos fagócitos, amplamente confinadas às vesículas). Com a destruição das células infectadas, os CTLs eliminam os reservatórios da infecção. Os CTLs também matam as células tumorais que expressam antígenos reconhecidos como estranhos.

Nos lembretes do livro, descrevemos em detalhe reconhecimento, ativação, regulação e fases efetoras das respostas imunes inatas e adaptativas. Os princípios introduzidos neste capítulo serão abordados novamente, ao longo do livro.

Resumo

- A imunidade protetora contra microrganismos é mediada pelas reações iniciais da imunidade inata e pelas respostas posteriores da imunidade adaptativa. As respostas imunes inatas são estimuladas por estruturas moleculares compartilhadas por grupos de microrganismos e pelas moléculas expressas por células lesadas do hospedeiro. A imunidade adaptativa é específica para diferentes antígenos microbianos e não microbianos e é aumentada por exposições repetidas ao antígeno (memória imunológica).
- Muitas características da imunidade adaptativa são de fundamental importância para suas funções normais. Estas incluem especificidade para diferentes antígenos, um repertório diverso capaz de reconhecer uma grande variedade de antígenos, memória à exposição antigênica e a capacidade de discriminar entre antígenos estranhos e antígenos próprios.
- A imunidade pode ser adquirida por uma resposta a um antígeno (imunidade ativa) ou conferida pela transferência de anticorpos ou células efetoras (imunidade passiva).
- Os linfócitos são as únicas células capazes de reconhecer antígenos especificamente e são, assim, as principais células da imunidade adaptativa. A população total de linfócitos consiste em muitos clones, cada um com um único receptor antigênico e especificidade. As duas principais subpopulações de linfócitos são as células B e as células T, que diferem em seus receptores antigênicos e em suas funções.
- A resposta imune adaptativa é iniciada pelo reconhecimento de antígenos estranhos pelos linfócitos específicos. As APCs especializadas capturam antígenos microbianos e os apresentam para o reconhecimento pelos linfócitos. Os linfócitos respondem proliferando e se diferenciando em células efetoras, cuja função é eliminar o antígeno, e em células de memória, as quais possuem respostas aumentadas em encontros subsequentes com o antígeno. A eliminação dos antígenos frequentemente necessita da participação de diversas células efetoras.
- A imunidade humoral é mediada por anticorpos secretados pelos linfócitos B e é o mecanismo de defesa contra microrganismos extracelulares. Anticorpos neutralizam a infectividade dos

microrganismos e promovem sua eliminação pelos fagócitos e pela ativação do sistema complemento.

- A imunidade mediada por células é mediada por linfócitos T e seus produtos, tais como citocinas, sendo importante para a defesa contra microrganismos intracelulares. Os linfócitos T auxiliares $CD4^+$ ajudam macrófagos a eliminar os microrganismos ingeridos e ajudam células B a produzir anticorpos. Os CTLs $CD8^+$ matam as células que abrigam patógenos intracelulares, eliminando, assim, reservatórios da infecção.

Referências Sugeridas

Ideias Históricas

Burnet FM. A modification of Jerne's theory of antibody production using the concept of clonal selection. *Australien J Sci*. 1957;20:67–69.

Cohn M, Mitchison NA, Paul WE, et al. Reflections on the clonal selection theory. *Nat Rev Immunol*. 2007;7:823–830.

Jerne NK. The natural-selection theory of antibody formation. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1955;41:849–857.

Silverstein AM. Cellular versus humoral immunology: a century-long dispute. *Nat Immunol*. 2003;4:425–428.

Evolução do Sistema Imune

Boehm T, Swann JB. Origin and evolution of adaptive immunity. *Annu Rev Anim Biosci*. 2014;2:259–283.

Flajnik MF, Du Pasquier L. Evolution of innate and adaptive immunity: can we draw a line? *Trends Immunol*. 2004;25:640–644.

Litman GW, Rast JP, Fugmann SD. The origins of vertebrate adaptive immunity. *Nat Rev Immunol*. 2010;10:543–553.

CAPÍTULO 2

Células e Tecidos do Sistema Imune

CÉLULAS DO SISTEMA IMUNE
- Fagócitos
- Mastócitos, Basófilos e Eosinófilos
- Linfócitos
- Células *Natural Killer* e Células Linfoides Inatas Secretoras de Citocinas

ANATOMIA E FUNÇÕES DOS TECIDOS LINFOIDES
- Medula Óssea
- Timo
- O Sistema Linfático
- Linfonodos
- Baço
- Sistemas Imunes Cutâneo e de Mucosa

RESUMO

As células do sistema imune inato e adaptativo normalmente estão presentes como células circulantes no sangue e na linfa, em órgãos linfoides e como células dispersas em praticamente todos os tecidos. O arranjo anatômico dessas células nos tecidos linfoides e sua capacidade de circular e realizar trocas entre sangue, linfa e tecidos têm importância decisiva para a geração das respostas imunes. O sistema imune enfrenta numerosos desafios para gerar respostas protetoras efetivas contra patógenos infecciosos. Primeiro, o sistema deve ser capaz de responder rapidamente a pequenas quantidades de muitos microrganismos distintos que podem ser introduzidos em qualquer local no corpo. Em segundo lugar, na resposta imune adaptativa, pouquíssimos linfócitos *naive* reconhecem e respondem especificamente a um antígeno qualquer. Em terceiro lugar, os mecanismos efetores do sistema imune adaptativo (anticorpos e células T efetoras) podem ter de localizar e destruir microrganismos em sítios distantes do local onde a resposta imune foi induzida. A capacidade do sistema imune de enfrentar esses desafios e desempenhar otimamente suas funções protetoras depende das respostas notavelmente rápidas e variadas das células imunes, do modo como essas células estão organizadas nos tecidos linfoides, e de sua habilidade de migrar de um tecido para outro.

O presente capítulo descreve as células e tecidos que compõem o sistema imune. No Capítulo 3, descreveremos os padrões de tráfego dos linfócitos ao longo do corpo e os mecanismos de migração de linfócitos e outros leucócitos.

Células do Sistema Imune

As células que realizam papéis especializados nas respostas imunes inata e adaptativa são os fagócitos, células dendríticas (DCs, do inglês, *dendritic cells*), linfócitos antígeno-específicos e vários outros leucócitos que atuam eliminando antígenos. Essas células foram introduzidas brevemente no Capítulo 1. Quase todas derivam de células-tronco hematopoiéticas (CTHs) existentes na medula óssea, as quais se diferenciam a partir de linhagens ramificadas. Com base em seus precursores comuns, as células imunes são amplamente classificadas em células mieloides, que incluem os fagócitos e a maioria das DCs, ou em células linfoides, que englobam todos os linfócitos. Os números de alguns desses tipos celulares no sangue são listados na Tabela 2.1. Embora a maioria dessas células sejam encontradas no sangue, as respostas de linfócitos a antígenos geralmente ocorrem em tecidos linfoides ou outros tecidos e, portanto, podem não ser refletidas pelas alterações nos números de linfócitos no sangue.

Tabela 2.1

Contagens de Células Sanguíneas Normais

	Número médio por mm^3	Faixa normal
Células brancas do sangue (leucócitos)	7.400	4.500–11.000/mm^3
Neutrófilos	4.400	40–60%
Eosinófilos	200	1–4%
Basófilos	40	<1%
Linfócitos	2.500	20–40%
Monócitos	300	2–8%

A expressão de diversas proteínas de membrana é usada para distinguir populações de células no sistema imune. Por exemplo, a maioria das células T auxiliares expressam uma proteína de superfície chamada CD4, enquanto a maioria dos linfócitos T citotóxicos (CTLs, do inglês, *cytotoxic T lymphocytes*) expressam uma proteína de superfície diferente chamada CD8. Essas e muitas outras proteínas de superfície frequentemente são denominadas marcadores, porque identificam e discriminam (marcam) populações celulares distintas. Esses marcadores não somente delineiam as diferentes classes de células, nos sistemas imunes inato e adaptativo, como também exercem muitas funções nos tipos celulares em que são expressos. A forma mais comum de determinar se um marcador em particular é expresso em uma célula é testar se anticorpos específicos para esse marcador se ligam à célula. Nesse contexto, os anticorpos são usados por pesquisadores ou clínicos como ferramentas analíticas. Existem centenas de preparações diferentes de anticorpos puros, cada uma das quais específica para uma molécula distinta e marcada com sondas que podem ser prontamente detectadas nas superfícies celulares por meio do uso de instrumentos apropriados. (Os anticorpos monoclonais são descritos no Capítulo 5, e os métodos de detecção de anticorpos marcados ligados a células são discutidos no Apêndice III.) A nomenclatura de grupamento de diferenciação (CD, do inglês, *cluster of differentiation*) é

um método uniforme amplamente adotado para nomear moléculas de superfície celular que são características de um estágio de diferenciação ou de uma linhagem celular em particular, têm estrutura definida e são reconhecidas por um grupo (*cluster*) de anticorpos monoclonais. Assim, todas as moléculas de superfície célular estruturalmente definidas recebem uma designação numérica de CD (p. ex.: CD1, CD2). Embora tenham sido originalmente criados para definir subtipos de células imunes circulantes (leucócitos), os marcadores CD são encontrados em todos os tipos celulares no corpo. As moléculas de CD têm funções importantes nas respostas imunes e são alvos de muitos anticorpos terapêuticos usados no tratamento de doenças inflamatórias e do câncer. O Apêndice II fornece uma lista atual dos marcadores CD leucocitários mencionados neste livro.

Fagócitos

Os fagócitos, incluindo neutrófilos e macrófagos, são células cuja função primária é ingerir e destruir microrganismos e remover tecidos danificados. As respostas funcionais dos fagócitos na defesa do hospedeiro consistem em etapas sequenciais: recrutamento das células para os sítios de infecção, reconhecimento e ativação por microrganismos, ingesta dos microrganismos através do processo de fagocitose, e destruição dos microrganismos ingeridos. Adicionalmente, por meio do contato direto e secreção de citocinas, os fagócitos se comunicam com outras células de maneira a promover ou regular as respostas imunes.

Os neutrófilos e monócitos no sangue são produzidos na medula óssea, circulam no sangue e são recrutados para os sítios inflamatórios. Embora ambos sejam ativamente fagocíticos, diferem significativamente (Tabela 2.2). A resposta do neutrófilo é mais rápida, e a expectativa de vida dessas células é curta, enquanto os monócitos se transformam em macrófagos nos tecidos, podem viver por longos períodos e, desse modo, sua resposta pode ter duração prolongada. Os neutrófilos usam rearranjos do citoesqueleto e montagem de enzimas para gerar respostas rápidas e transientes, enquanto os macrófagos contam principalmente com a transcrição de novos genes. Essas funções dos fagócitos são importantes na imunidade inata, conforme discutiremos no Capítulo 4, e também na fase efetora de algumas respostas imunes adaptativas, conforme discutiremos no Capítulo 10. Como prelúdio a discussões mais detalhadas sobre o papel dos fagócitos nas respostas imunes em capítulos posteriores, discutiremos aqui os aspectos morfológicos dos neutrófilos e macrófagos, e introduziremos brevemente suas respostas funcionais.

Tabela 2.2

Propriedades Distintivas de Neutrófilos e Macrófagos

	Neutrófilos	Macrófagos
Origem	CTHs na medula óssea	CTHs na medula óssea (em reações inflamatórias); muitos macrófagos residentes nos tecidos: células-tronco no saco vitelínico ou fígado fetal (início do desenvolvimento)
Expectativa de vida nos tecidos	1-2 dias	Macrófagos inflamatórios: dias ou semanas Macrófagos residentes teciduais: anos
Respostas a estímulos ativadores	Atividade enzimática rápida, de curta duração	Mais prolongada, mais lenta, normalmente dependente de nova transcrição gênica
Fagocitose	Rápida ingesta de microrganismos	Habilidade prolongada de ingerir microrganismos, células apoptóticas, debris teciduais, material estranho
Espécies reativas do oxigênio	Rapidamente induzida pela montagem da oxidase do fagócito (*burst* respiratório)	Menos proeminente
Óxido nítrico	Baixos níveis ou nenhum	Induzida em seguida à ativação transcricional de iNOS
Desgranulação	Principal resposta; induzida por rearranjos do citoesqueleto	Não proeminente
Produção de citocina	Baixos níveis por célula	Principal atividade funcional, grandes quantidades por célula, requer ativação transcricional de genes de citocina
Formação de NET	Rapidamente induzida, por extrusão de conteúdos nucleares	Não
Secreção de enzimas lisossomais	Proeminente	Menos

Esta tabela lista as principais diferenças entre neutrófilos e macrófagos. As reações resumidas anteriormente são descritas no texto. Note que os dois tipos celulares compartilham muitas características, como fagocitose, quimiotaxia e habilidade de migrar ao longo dos vasos sanguíneos para os tecidos. *CTH*, célula-tronco hematopoiética; *iNOS*, óxido nítrico sintase induzível; *NET*, armadilhas extracelulares de neutrófilo.

Neutrófilos

Os neutrófilos constituem a população mais abundante de leucócitos circulantes e o principal tipo celular nas reações inflamatórias agudas. Os neutrófilos circulam como células esféricas, medindo cerca de 12-15 μm de diâmetro, com numerosas projeções membranosas. O núcleo é segmentado em três a cinco lóbulos conectados (Fig. 2.1A). Devido à sua morfologia nuclear, os neutrófilos também são chamados *leucócitos polimorfonucleares* (PMNs). O citoplasma contém dois tipos de grânulos ligados à membrana. A maioria desses grânulos, chamados grânulos específicos, estão repletos de enzimas, como lisozima, colagenase e elastase. Esses grânulos não são corados fortemente por corantes básicos ou ácidos (hematoxilina e eosina, respectivamente), e isso distingue os neutrófilos dos outros dois tipos de leucócitos circulantes contendo

grânulos citoplasmáticos, chamados **basófilos** e **eosinófilos**. O restante dos grânulos dos neutrófilos, chamados grânulos azurofílicos (ou azurófilos), contêm enzimas e outras substâncias microbicidas, entre as quais as defensinas e catelicidinas, que discutiremos no Capítulo 4. Os neutrófilos são produzidos na medula óssea e surgem de precursores que também originam fagócitos mononucleares. A produção de neutrófilos é estimulada pelo fator estimulador de colônia de granulócito (G-CSF, do inglês, *granulocyte colony-stimulating factor*) e pelo fator estimulador de colônia de granulócito-macrófago (GM-CSF, do inglês, *granulocyte-macrophage colony-stimulating factor*). Um humano adulto produz mais de 1×10^{11} neutrófilos por dia, cada um dos quais circulando no sangue por poucas horas ou dias. Os neutrófilos podem migrar rapidamente para sítios de infecção após a entrada de microrganismos. Após entrarem nos tecidos, os neutrófilos atuam apenas durante 1-2 dias e, então, morrem.

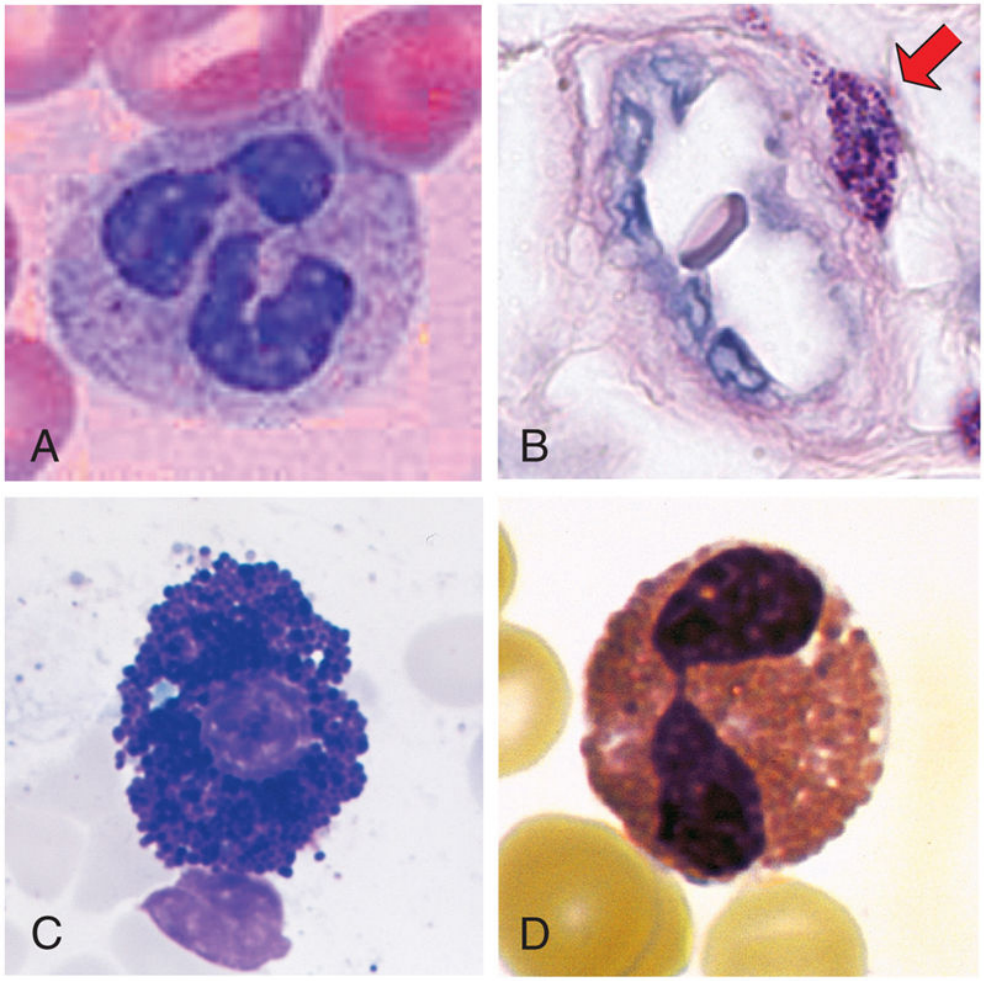


FIGURA 2.1 Morfologia de neutrófilos, mastócitos, basófilos e eosinófilos. **A,** Micrografia de luz de um neutrófilo sanguíneo corado com Wright-Giemsa mostra o núcleo multilobado, por causa do qual essas células também são chamadas leucócitos polimorfonucleares, e os grânulos citoplasmáticos esmaecidos. **B,** A micrografia de luz de um corte de pele corado com Wright-Giemsa mostra um mastócito *(seta)* adjacente a um pequeno vaso sanguíneo, identificável pela hemácia presente no lúmen. Os grânulos citoplasmáticos no mastócito, que se coram de roxo, estão cheios de histamina e outros mediadores que atuam em vasos sanguíneos adjacentes promovendo aumento do fluxo sanguíneo e distribuição de proteínas plasmáticas e leucócitos no tecido. *(Cortesia de Dr. George Murphy, Department of Pathology, Brigham and Women's Hospital, Boston, Massachusetts.)* **C,** Micrografia de luz de um basófilo sanguíneo corado com Wright-Giemsa, mostrando os característicos grânulos citoplasmáticos corados de azul. *(Cortesia de Dr. Jonathan Hecht, Department of Pathology, Brigham and Women's Hospital, Boston, Massachusetts.)* **D,** Micrografia de luz de um eosinófilo sanguíneo corado com Wright-Giemsa, mostrando o típico núcleo segmentado e a coloração vermelha dos grânulos citoplasmáticos.

A principal função dos neutrófilos é fagocitar microrganismos, especialmente microrganismos opsonizados, e produtos de células necróticas, bem como destruir esse material nos fagolisossomos. Em adição, os neutrófilos produzem conteúdos de

grânulos e substâncias antimicrobianas que matam microrganismos extracelulares, mas também danificam tecidos sadios.

Fagócitos Mononucleares

O sistema de fagócitos mononucleares inclui células circulantes chamadas monócitos que se transformam em macrófagos ao migrarem para os tecidos, e macrófagos residentes teciduais, derivados principalmente de precursores hematopoiéticos durante a vida fetal (Fig. 2.2).

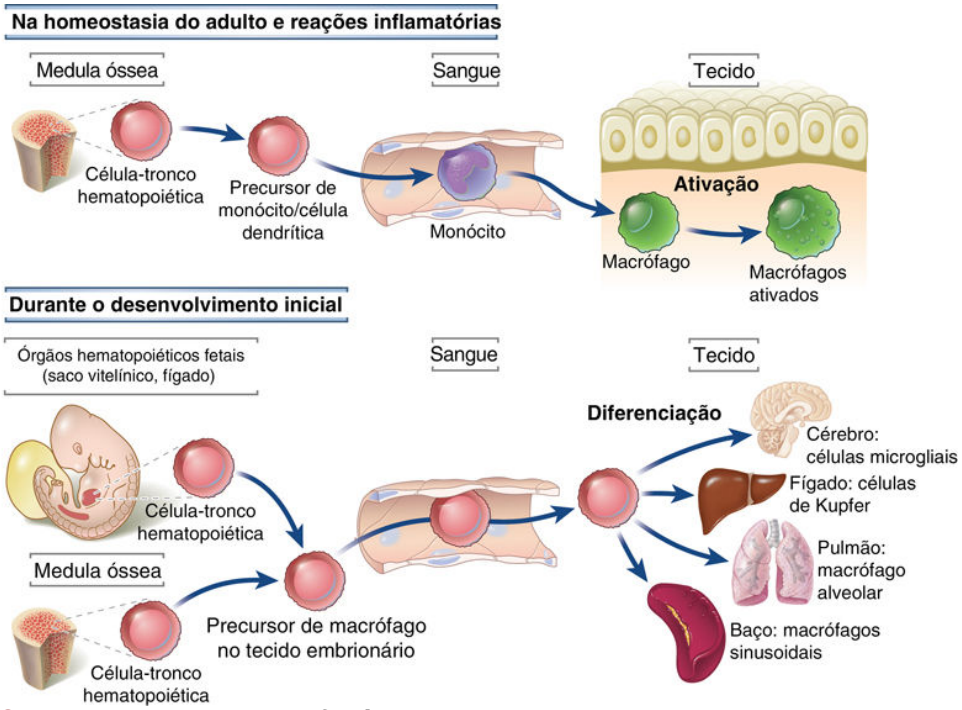


FIGURA 2.2 Maturação de fagócitos mononucleares.
No estado estável em adultos e durante as reações inflamatórias, os precursores na medula óssea originam monócitos circulantes, os quais entram nos tecidos periféricos, amadurecem para formar macrófagos e são ativados localmente. No desenvolvimento inicial, assim como na vida fetal, os precursores presentes no saco vitelínico e no fígado fetal originam as células que semeiam os tecidos para gerar macrófagos residentes teciduais especializados.

Desenvolvimento de Monócitos e Macrófagos

Os macrófagos estão amplamente distribuídos em todos os órgãos e no tecido conectivo. Em adultos, as células da linhagem monócito-macrófago surgem a partir de células precursoras comprometidas existentes na medula óssea, dirigidas por uma citocina chamada fator estimulador de colônia de monócito (ou macrófago) (M-CSF, do inglês, *macrophage colony-stimulating factor*). Esses precursores amadurecem em monócitos, que, por sua vez, entram e circulam no sangue (Fig. 2.2), e então migram para os tecidos, especialmente durante as reações inflamatórias, onde amadurecem

ainda mais em macrófagos. Muitos tecidos são povoados por macrófagos residentes de vida longa, os quais derivam do saco vitelínico ou de precursores do fígado fetal, durante o desenvolvimento fetal, e assumem fenótipos especializados de acordo com o órgão (Fig. 2.2). São exemplos as células de Kupffer, que revestem os sinusoides no fígado, os macrófagos alveolares no pulmão, e as células microgliais no cérebro.

Subpopulações de Monócitos

Os monócitos medem 10-15 μm de diâmetro e têm núcleos em forma de feijão, citoplasma finamente granular contendo lisossomos, vacúolos fagocíticos e filamentos de citoesqueleto (Fig. 2.3). Os monócitos são heterogêneos e consistem em diferentes subpopulações distinguíveis pelos marcadores de superfície celular e por suas funções, e não pela morfologia. Em ambos, seres humanos e camundongos, os monócitos mais numerosos, chamados *monócitos clássicos* ou *inflamatórios*, produzem mediadores inflamatórios, são fagocíticos e rapidamente recrutados para os sítios de infecção ou lesão tecidual. Essas células também são encontradas no baço, a partir de onde podem ser recrutadas para a circulação em resposta a estímulos inflamatórios sistêmicos. Em seres humanos, esses monócitos são identificáveis pela alta expressão de CD14 na superfície celular, ausência de expressão de CD16 e expressão do receptor de quimiocina CCR2. Em camundongos, a subpopulação clássica é identificável pela alta expressão de uma molécula chamada Ly6 e expressão de CCR2. O segundo tipo de monócito circulante, os chamados *monócitos não clássicos*, é recrutado para os tecidos após a infecção ou lesão e pode contribuir para o reparo. Sabe-se que algumas dessas células se arrastam ao longo das superfícies endoteliais (naquilo que é descrito como *patrulhamento*). Em seres humanos, os monócitos não clássicos constituem uma minoria dos monócitos sanguíneos e são identificados por baixos níveis de CD14, bem como por altos níveis de CD16 e do receptor de quimiocina CX3CR1. Em camundongos, essas células expressam baixos níveis de Ly6c. Há ainda uma terceira subpopulação humana que expressa CD14 e níveis intermediários de CD16, apresentando funções inflamatórias.

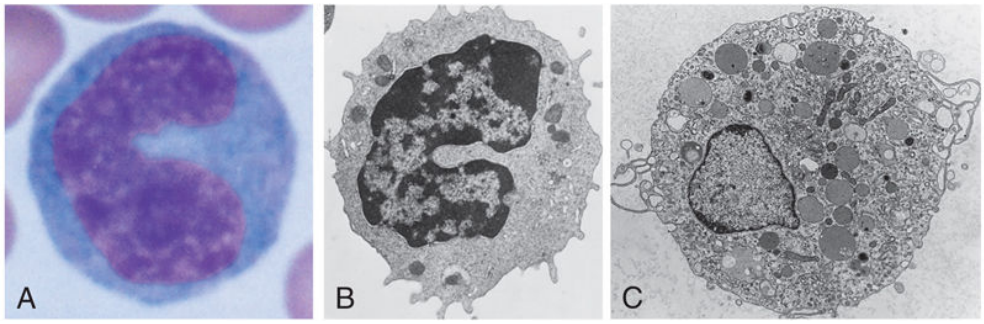


FIGURA 2.3 Morfologia de fagócitos mononucleares.
A, Micrografia de luz de um monócito em um esfregaço de sangue periférico. **B,** Micrografia eletrônica de um monócito do sangue periférico. *(Cortesia do Dr. Noel Weidner, Department of Pathology, University of California, San Diego.)* **C,** Micrografia eletrônica de um macrófago tecidual ativado mostrando numerosos vacúolos fagocíticos e organelas citoplasmáticas.

Funções dos Macrófagos

Os macrófagos teciduais desempenham várias funções importantes na imunidade inata e na imunidade adaptativa.

- Uma das principais funções dos macrófagos na defesa do hospedeiro é ingerir microrganismos por meio do processo de fagocitose e, então, destruir os microrganismos ingeridos. Os mecanismos de fagocitose e *killing*, que discutiremos no Capítulo 4, incluem a formação de organelas citoplasmáticas ligadas à membrana que contêm os microrganismos; a fusão dessas organelas com os lisossomos; a geração de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio no lisossomo que são tóxicas para os microrganismos; e a digestão das proteínas microbianas por enzimas proteolíticas.
- Além de ingerir microrganismos, os macrófagos ingerem células necróticas do hospedeiro, incluindo as células que morrem nos tecidos em consequência dos efeitos de toxinas, traumatismo ou interrupção do suprimento sanguíneo, e também os neutrófilos que morrem após se acumularem em sítios de infecção. Isto é parte do processo de limpeza que se segue à infecção ou lesão tecidual estéril. Os macrófagos também reconhecem e englobam células apoptóticas antes de estas poderem liberar seus conteúdos e induzir respostas inflamatórias. Ao longo de todo o corpo e no decorrer da vida inteira de um indivíduo, as células indesejadas morrem por apoptose como parte de muitos processos fisiológicos, como desenvolvimento, crescimento e renovação de tecidos sadios, sendo que as células mortas são eliminadas pelos macrófagos.
- Os macrófagos são ativados por substâncias microbianas e secretam diferentes citocinas que atuam sobre as células endoteliais do revestimento dos vasos sanguíneos, intensificando o recrutamento de mais monócitos e outros leucócitos do sangue para os sítios de infecção, amplificando assim a resposta protetora contra os microrganismos. Outras citocinas atuam sobre os leucócitos e estimulam sua migração para os sítios teciduais de infecção ou dano. Algumas importantes citocinas derivadas de macrófagos são discutidas no Capítulo 4.
- Os macrófagos atuam como células apresentadoras de antígeno (APCs, do inglês, *antigen-presenting cells*) que exibem fragmentos de antígenos proteicos e ativam linfócitos T. Esta função é importante na fase efetora das respostas imunes mediadas pela célula T (Capítulos 6 e 10).
- Os macrófagos promovem o reparo de tecidos lesados estimulando o crescimento de novos vasos sanguíneos (angiogênese) e a síntese de matriz extracelular rica em colágeno (fibrose). Essas funções são mediadas pelas citocinas secretadas pelos macrófagos que atuam em várias células teciduais.

Os macrófagos tipicamente respondem aos microrganismos que estão por perto tão rapidamente quanto os neutrófilos, porém os macrófagos sobrevivem por um tempo muito maior nos sítios de inflamação. Diferentemente dos neutrófilos, os macrófagos não são terminalmente diferenciados e podem sofrer divisão celular em um sítio inflamatório. Portanto, os macrófagos são as células efetoras dominantes nos estágios mais tardios da resposta imune inata, decorridos vários dias do início de uma infecção.

Receptores e Ativação de Macrófagos

Os macrófagos são ativados para desempenharem suas funções através do reconhecimento de muitos tipos diferentes de moléculas microbianas, bem como moléculas do hospedeiro produzidas em resposta a infecções e lesão. Essas diversas moléculas ativadoras se ligam a receptores sinalizadores específicos localizados na superfície ou dentro do macrófago. São exemplos desses receptores os receptores do tipo *Toll* (TLRs, do inglês, *Toll-like receptors*), que são importantes na imunidade inata e serão discutidos em detalhes no Capítulo 4. Os macrófagos também são ativados quando outros receptores na membrana plasmática se ligam a opsoninas presentes na superfície dos microrganismos. As opsoninas são substâncias que cobrem partículas e, assim, as marcam para serem fagocitadas. Exemplos de receptores de opsonina são os receptores de complemento, que se ligam a fragmentos de proteínas do complemento que se fixam às superfícies microbianas, e os receptores de Fc de imunoglobulina G (IgG), que se ligam a uma extremidade das moléculas de anticorpo IgG previamente ligadas a microrganismos pela outra extremidade, discutidos no Capítulo 13. Na imunidade adaptativa, os macrófagos são ativados pelas citocinas secretadas e por proteínas de membrana presentes em linfócitos T, as quais discutiremos no Capítulo 10.

Subpopulações de Macrófagos

Os macrófagos podem adquirir capacidades funcionais distintas dependendo dos tipos de estímulos ativadores a que são expostos. O exemplo mais nítido disto é a resposta dos macrófagos às diferentes citocinas produzidas pelas subpopulações de células T. Algumas dessas citocinas ativam os macrófagos tornando-os mais eficientes no *killing* dos microrganismos — a chamada **ativação clássica** — e essas células são então chamadas macrófagos M1. Outras citocinas ativam os macrófagos para que promovam remodelamento e reparo tecidual — a chamada **ativação alternativa** — e essas células então são chamadas macrófagos M2. Essas vias de ativação distintas e as citocinas envolvidas são discutidas no Capítulo 10. A relação entre as subpopulações de monócitos sanguíneos, discutida anteriormente, e as subpopulações de macrófagos não é bem conhecida, mas é sabido que os monócitos clássicos (inflamatórios) e macrófagos M1 compartilham propriedades funcionais. Os macrófagos também podem assumir diferentes morfologias após a ativação por estímulos externos, como os microrganismos. Alguns desenvolvem citoplasma abundante e são chamados células epitelioides, devido à semelhança com as células epiteliais da pele. Os macrófagos ativados podem se fundir para formar células gigantes multinucleadas, o que ocorre frequentemente em certos tipos de infecções microbianas, como as infecções por micobactérias, e em resposta a corpos estranhos indigeríveis.

Mastócitos, Basófilos e Eosinófilos

Os mastócitos, basófilos e eosinófilos são três tipos celulares adicionais que atuam nas respostas de imunidade inata e de imunidade adaptativa. Todos esses três tipos celulares compartilham a propriedade comum de terem grânulos citoplasmáticos contendo vários mediadores inflamatórios e antimicrobianos, os quais são liberados das células mediante ativação. Outra característica dessas células é seu envolvimento nas respostas imunes que conferem proteção contra helmintos e nas reações causadoras de

doenças alérgicas. As características dessas células serão introduzidas nesta seção, enquanto suas funções serão mais detalhadas no Capítulo 20.

Mastócitos

Os mastócitos são células derivadas da medula óssea presentes nos epitélios da pele e das mucosas, as quais ao serem ativadas liberam numerosos mediadores inflamatórios potentes que conferem defesa contra infecções por parasitas ou produzem os sintomas das doenças alérgicas. Uma citocina chamada fator da célula-tronco (ou c-Kit-ligante) é essencial ao desenvolvimento do mastócito. Normalmente, os mastócitos maduros não são encontrados na circulação, mas estão presentes nos tecidos, em geral adjacentes a pequenos vasos sanguíneos e nervos (Fig. 2.1B). Seu citoplasma contém numerosos grânulos ligados à membrana, repletos de mediadores inflamatórios pré-formados, como a histamina, bem como proteoglicanas acídicas que se ligam a corantes básicos conferindo uma cor azul-escura aos grânulos quando corantes especiais são usados. Vários estímulos podem ativar os mastócitos e fazê-los liberar os conteúdos dos grânulos citoplasmáticos no espaço extracelular, bem como sintetizar e liberar citocinas e outros mediadores inflamatórios. A histamina e os outros mediadores liberados promovem alterações nos vasos sanguíneos que causam inflamação. Os mastócitos expressam receptores na membrana plasmática com alta afinidade por um tipo de anticorpo denominado IgE, e geralmente são recobertos por estes anticorpos. Quando os anticorpos presentes na superfície do mastócito se ligam ao antígeno, são induzidos eventos sinalizadores que levam à ativação do mastócito. Os mastócitos também são ativados quando reconhecem produtos microbianos, independentemente da IgE, atuando nesse sentido como sentinelas do sistema imune inato.

Basófilos

Os basófilos são granulócitos sanguíneos que apresentam muitas similaridades estruturais e funcionais com os mastócitos. Assim como outros granulócitos, os basófilos derivam de precursores hematopoiéticos, amadurecem na medula óssea (sua linhagem é diferente da linhagem dos mastócitos) e circulam no sangue. Os basófilos constituem menos de 1% dos leucócitos sanguíneos (Tabela 2.1). Embora normalmente estejam ausentes nos tecidos, os basófilos podem ser recrutados para alguns sítios inflamatórios. Os basófilos também contêm grânulos que se ligam a corantes básicos (Fig. 2.1C) e são capazes de sintetizar muitos mediadores que também são sintetizados pelos mastócitos. Como estes, os basófilos expressam receptores de IgE, ligam-se à IgE e podem ser ativados pela ligação do antígeno à IgE. Como o número de basófilos nos tecidos é baixo, sua importância na defesa do hospedeiro e nas reações alérgicas é incerta.

Eosinófilos

Os eosinófilos são granulócitos que expressam grânulos citoplasmáticos contendo enzimas nocivas às paredes celulares de parasitas, mas que também podem danificar os tecidos do hospedeiro. Os grânulos dos eosinófilos contêm principalmente proteínas básicas que se ligam a corantes ácidos, como a eosina, e isto é visto como uma cor avermelhada em esfregaços de sangue e cortes de tecido corados (Fig. 2.1D). Os

eosinófilos são derivados da medula óssea e circulam no sangue, de onde podem ser recrutados para os tecidos. As citocinas GM-CSF, interleucina-3 (IL-3) e IL-5 promovem a maturação do eosinófilo a partir dos precursores mieloides. Alguns eosinófilos normalmente estão presentes nos tecidos periféricos, em especial nos revestimentos de mucosa dos tratos respiratório, gastrintestinal e geniturinário, e seu número pode aumentar por meio do recrutamento a partir do sangue que ocorre no contexto da inflamação.

Células Dendríticas (DCs)

As DCs são células residentes nos tecidos e também circulantes que percebem a presença de microrganismos e iniciam reações de defesa imune inata, além de capturarem as proteínas microbianas para exibi-las às células T e assim iniciar as respostas imunes adaptativas. Essas funções das DCs as colocam em uma posição singular no sistema imune, atuando como sentinelas de infecção que iniciam a rápida resposta inata, mas também ligando as respostas inatas ao desenvolvimento das respostas imunes adaptativas. Os papéis das DCs na imunidade inata e adaptativa são possíveis graças a várias características importantes presentes nessas células. As DCs expressam TLRs e outros receptores que reconhecem moléculas microbianas, e respondem aos microrganismos secretando citocinas que recrutam e ativam células inatas nos sítios de infecção. As DCs também são extremamente eficientes na captura de antígenos proteicos de microrganismos, degradação desses antígenos e exibição de partes desses antígenos para o reconhecimento pelas células T. A resposta imune inata intensifica essa capacidade de apresentação de antígeno das DCs e isso é um dos principais mecanismos pelos quais a imunidade inata promove respostas imunes adaptativas. Discutiremos o papel das DCs como mediadoras da imunidade inata e como APCs nos Capítulos 4 e 6, respectivamente. Aqui, introduziremos as propriedades gerais das DCs.

Desenvolvimento das Células Dendríticas

As DCs têm longas projeções membranosas, são dotadas de capacidades fagocíticas e estão amplamente distribuídas nos tecidos linfoides, epitélio de mucosa e parênquima de órgãos (Fig. 2.4). A maioria das DCs faz parte da linhagem mieloide de células hematopoiéticas e surge de um precursor que também pode se diferenciar em monócitos (Fig. 2.5). A maturação das DCs depende de uma citocina chamada Flt3-ligante, que se liga ao receptor tirosina quinase Flt3 nas células precursoras. As *células de Langerhans*, um tipo de DC encontrada na camada epitelial da pele, desenvolvem-se a partir de precursores embrionários no saco vitelínico ou fígado fetal, no início do desenvolvimento do organismo, e assumem a residência na pele antes do nascimento. Todas as DCs expressam ambas as moléculas do complexo principal de histocompatilidade (MHC, do inglês, *major histocompatibility complex*), de classes I e II, que são essenciais para a apresentação de antígenos às células T $CD8^+$ e $CD4^+$, respectivamente.

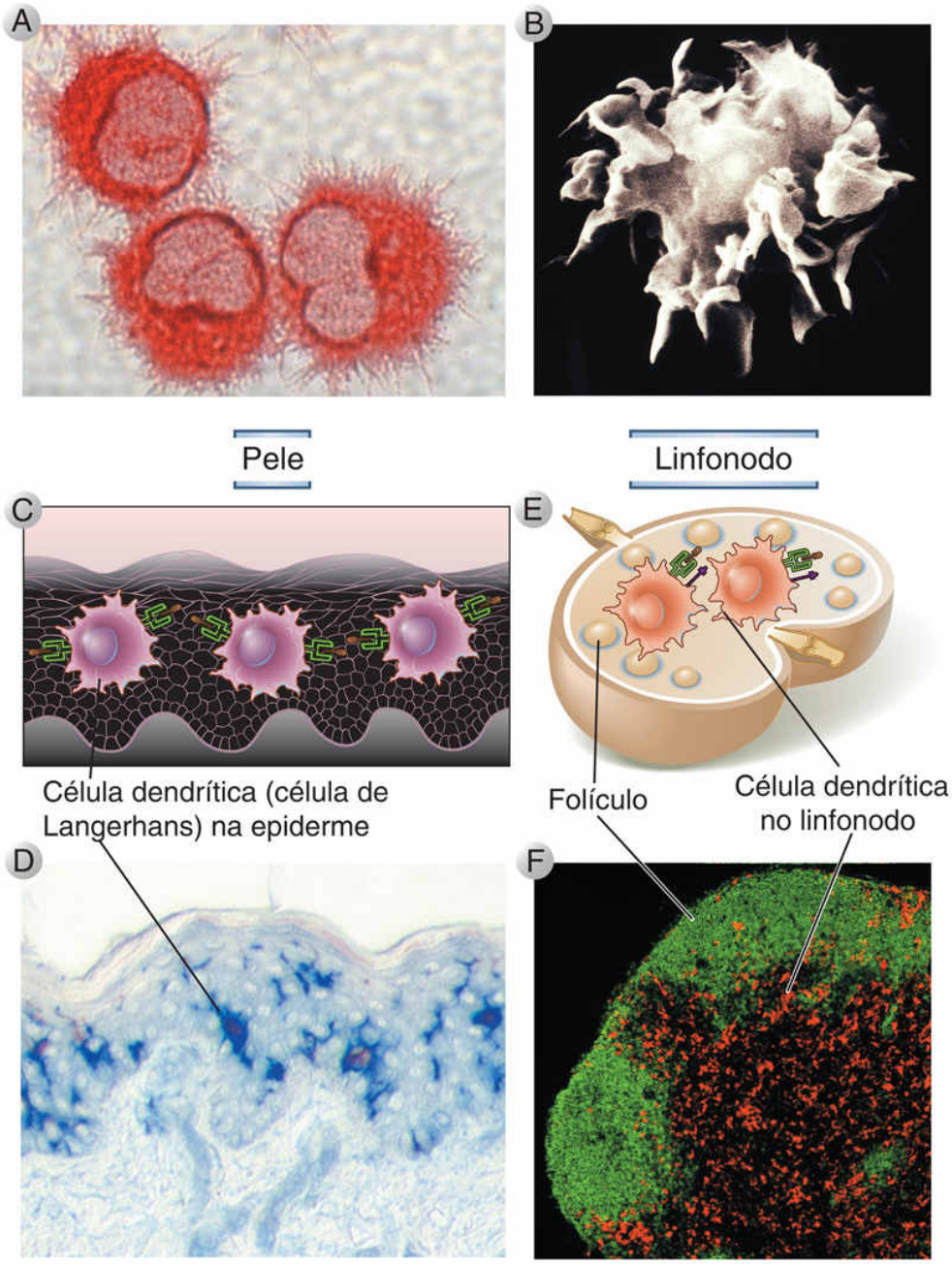


FIGURA 2.4 Células dendríticas.
A, Micrografia de luz de DCs cultivadas derivadas de precursores da medula óssea. **B,** Micrografia eletrônica de varredura de uma DC mostrando extensivas projeções de membrana. **C** e **D,** DCs na pele, ilustradas esquematicamente **(C)** e em um corte de pele **(D)** corado com anticorpo específico para células de Langerhans (que aparecem em *azul* nesta coloração imunoenzimática). **E** e **F,** DCs em um linfonodo, ilustrado esquematicamente **(E)** e em um corte de linfonodo murino **(F)** corado com anticorpos marcados com fluorescência contra células B nos folículos *(verde)* e DCs na zona de células T *(vermelho)*. (**A, B,** e **D,** Cortesia de Dr. Y-J Liu, MD, Anderson Cancer Center, Houston, Texas. **F,** Cortesia de Drs. Kathryn Pape and Jennifer Walter, University of Minnesota School of Medicine, Minneapolis.)

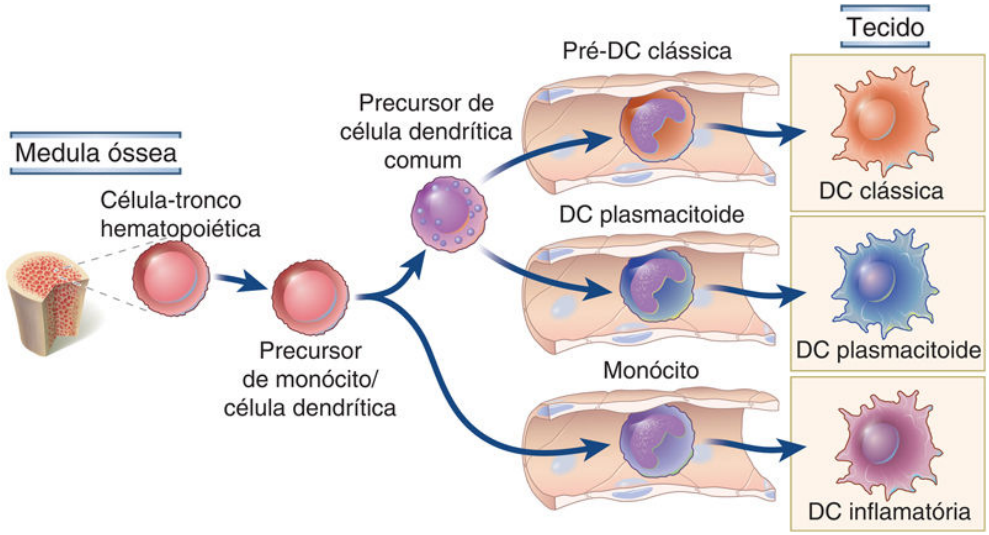


FIGURA 2.5 Maturação de células dendríticas.
As DCs surgem a partir de uma célula precursora comum da linhagem mieloide, na medula óssea, e se diferenciam adicionalmente em subpopulações. As principais subpopulações são as DCs clássicas e as DCs plasmacitoides. As DCs inflamatórias podem surgir em tecidos inflamados. *DC*, célula dendrítica.

Subpopulações de Células Dendríticas

Existem duas populações principais de DCs que diferem quanto às propriedades fenotípicas e funções principais (Tabela 2.3). As funções dessas subpopulações refletem suas atividades (p. ex.: tipos de citocinas secretadas), bem como suas localizações.

- ***As DCs clássicas (também chamadas DCs convencionais) são o principal tipo de DC envolvida na captura de antígenos proteicos de microrganismos que entram através dos epitélios, bem como na apresentação dos antígenos às células T.*** Essas células foram identificadas pela primeira vez por sua morfologia e capacidade de estimular fortes respostas de células T, além de serem a subpopulação mais numerosa de DCs nos epitélios e órgãos linfoides. A maioria dessas células derivam de precursores mieloides que migram da medula óssea para se diferenciarem localmente em DCs residentes em tecidos linfoides e não linfoides. Similarmente aos macrófagos teciduais, essas células DC amostram constantemente o ambiente em que residem. Por exemplo, no intestino, as DCs parecem emitir processos que atravessam as células epiteliais e se projetam para dentro do lúmen, onde podem atuar capturando antígenos luminais. As células de Langerhans na epiderme desempenham papéis similares aos das outras DCs clássicas.

As DCs clássicas podem ser adicionalmente divididas em duas subpopulações principais (Fig. 2.4 e Tabela 2.3). Todas as DCs clássicas expressam MHC de classe II e CD11c, porém as subpopulações podem ser identificadas por marcadores adicionais. A subpopulação mais numerosa (principal), distinguida pela alta expressão de BDCA-1/CD1c em seres humanos ou de integrina CD11b em camundongos, além do fator de transcrição IRF4, é mais potente na condução das respostas de células T $CD4^+$. A outra subpopulação, identificada

pela expressão de BDCA-3 em seres humanos ou, em camundongos, de CD8 nos tecidos linfoides ou da integrina CD103 nos tecidos periféricos, e o fator de transcrição IRF8, é especializada na apresentação de antígenos às células T $CD8^+$ e direciona sua diferenciação em CTLs. Algumas DCs clássicas encontradas nos tecidos podem ser derivadas de monócitos sanguíneos recrutados, especialmente em situações de inflamação.

- ***As DCs plasmacitoides produzem a citocina antiviral conhecida como interferon (IFN) tipo I em resposta aos vírus, e podem capturar microrganismos transmitidos pelo sangue e transportar seus antígenos para o baço para apresentação às células T.*** Essas DCs são assim nomeadas porque, após sua ativação, começam a se tornar morfologicamente parecidas com os plasmócitos. Desenvolvem-se na medula óssea a partir de um precursor que também origina as DCs clássicas, sendo encontradas no sangue e em pequenos números nos órgãos linfoides. As DCs plasmacitoides são as principais produtoras das citocinas chamadas interferons (IFNs) de tipo I no corpo, que promovem atividades antivirais potentes e exercem papel importante na defesa do hospedeiro contra os vírus (Capítulo 4).

Tabela 2.3

Subpopulações de Células Dendríticas Humanas

Células Dendríticas Clássicas (Convencionais)			
Característica Distintiva	**Principal**	**Apresentação Cruzada**	**Células Dendríticas Plasmacitoides**
Marcadores de superfície	CD11c BDCA-1 (CD1c) Dectina 1 (CLEC7A) Dectina 2 (CLEC6)	CD11c BDCA-3 (CD141) CLEC9A $XCR1^+$	BDCA-2 (CD303) BDCA4 (CD304) CD123
TLRs expressos	Vários	Vários	Altos níveis de TLR7, TLR9
Fatores de transcrição	IRF4	IRF8	E2-2
Principais citocinas produzidas	IL-12, outras	IL-23	IFN tipo I
Principais funções postuladas	Imunidade inata: fonte de citocinas inflamatórias Imunidade adaptativa: captura e apresentação de antígenos principalmente a células T $CD4^+$	Imunidade adaptativa: captura e apresentação cruzada de antígenos a células T $CD8^+$	Imunidade antiviral: resposta inata inicial; condicionamento de células T antivirais

O conhecimento sobre as subpopulações de células dendríticas (DCs) humanas, especialmente junto aos tecidos, é incompleto e há muitas diferenças em relação às subpopulações de DC murinas, mais estudadas. Outras subpopulações de DCs foram descritas com base na expressão de vários marcadores de superfície ou na migração a partir dos sítios teciduais (p. ex.: células de Langerhans em DCs epidérmicas e intersticiais presentes em outros tecidos). Note que todas as DCs expressam moléculas do complexo principal de histocompatibilidade de classe II. A DC monócito-derivada expressa CD14 e DC-SIGN, é diferente das subpopulações anteriormente descritas e pode se desenvolver *in vivo* durante as reações inflamatórias. As DCs de todos os tipos não ativadas podem exibir autoantígenos e servir para manter a autotolerância; essa função postulada não foi listada na tabela.

IL, interleucina; *IFN*, interferon; *TLRs*, receptores do tipo *Toll*.

Outra população de células, denominada células dendríticas foliculares (FDCs, do inglês, *follicular dendritic cells*), exibem morfologia dendrítica, mas não estão relacionadas às DCs discutidas previamente. Não derivam de precursores na medula óssea e não apresentam antígenos proteicos às células T, mas estão envolvidas na ativação da célula B junto aos órgãos linfoides (Capítulo 12).

Linfócitos

Os linfócitos, células ímpares da imunidade adaptativa, são as únicas células no corpo que expressam receptores antigênicos clonalmente distribuídos, cada um dos quais específico para um determinante antigênico diferente. Cada clone de linfócitos T e B expressa receptores antigênicos com especificidade única, diferente das especificidades dos receptores presentes nos outros clones. Conforme discutiremos aqui e em capítulos posteriores, existem milhões de clones de linfócitos no corpo, capacitando qualquer indivíduo a reconhecer e responder a milhões de antígenos estranhos.

O papel dos linfócitos como mediadores da imunidade adaptativa foi estabelecido por várias linhas de evidência acumuladas ao longo de décadas de pesquisas. Um dos indícios mais recentes veio da observação de que seres humanos com estados de imunodeficiência congênita e adquirida apresentavam números reduzidos de linfócitos na circulação periférica e nos tecidos linfoides. Experimentos realizados com camundongos e ratos mostraram que a depleção de linfócitos comprometia as respostas às imunizações, e que os linfócitos são o único tipo celular capaz de transferir imunidade específica a microrganismos de animais imunizados para animais *naive*. Experimentos *in vitro* estabeleceram que a estimulação de linfócitos com antígenos leva a respostas que apresentam muitas das características das respostas imunes induzidas sob condições mais fisiológicas *in vivo.* Em seguida à identificação dos linfócitos como mediadores da imunidade humoral e celular, muitas descobertas foram feitas em um ritmo acelerado, acerca dos diferentes tipos de linfócitos, suas origens na medula óssea e no timo, seus papéis em várias respostas imunes, e as consequências de sua ausência. Entre os achados mais importantes, estava o de que os receptores antígeno-específicos clonalmente distribuídos e altamente diversificados são produzidos unicamente por linfócitos, e por nenhum outro tipo de célula. Mais recentemente, foi acumulada uma quantidade enorme de informação sobre os genes, proteínas e funções dos linfócitos.

Um dos aspectos mais fascinantes da biologia dos linfócitos é como o repertório extremamente diversificado de receptores antigênicos com diferentes especificidades é gerado a partir de um pequeno número de genes codificadores desses receptores, presentes na linhagem germinativa. Hoje, sabe-se que os genes codificadores de receptores antigênicos de linfócitos são formados pela recombinação de segmentos de DNA durante a maturação dessas células. Existe um aspecto aleatório nesses eventos de recombinação somática que resulta na geração de milhões de diferentes genes de receptor recombinados e em um repertório altamente diverso de especificidades antigênicas entre diferentes clones de linfócitos (Capítulo 8).

O número total de linfócitos em um adulto sadio é cerca de 5×10^{11}. Desse total, ~2% estão no sangue, ~4% estão na pele, ~10% estão na medula óssea, ~15% estão nos tecidos linfoides das mucosas dos tratos gastrintestinal e respiratório, e ~65% estão nos órgãos linfoides (principalmente, baço e linfonodos). Primeiramente, descreveremos as propriedades dessas células e, em seguida, sua organização em vários tecidos linfoides.

Classes de Linfócitos

Os linfócitos consistem em classes distintas com diferentes funções e produtos proteicos (Tabela 2.4). As principais classes de linfócitos foram introduzidas no Capítulo 1 (Fig. 1.5). Do ponto de vista morfológico, todos os linfócitos são similares, e sua aparência não reflete sua heterogeneidade nem suas diversas funções. Os **linfócitos B**, as células produtoras de anticorpos, foram assim chamados por terem sido encontrados em processo de amadurecimento em um órgão chamado bursa (bolsa) de Fabricius encontrado em aves. Em mamíferos, não há equivalente anatômico da bursa, e os estágios iniciais da maturação da célula B ocorrem na medula óssea. Assim, o nome *linfócitos B* hoje se refere aos linfócitos derivados da medula óssea. Os **linfócitos T**, mediadores da imunidade celular, surgem a partir de células precursoras na medula óssea que migram e amadurecem no timo; portanto, *linfócitos T* se refere aos linfócitos derivados do timo.

Tabela 2.4

Classes de Linfócitos

Classe	Funções	Receptor Antigênico e Especificidade	Marcadores Fenotípicos Selecionados	Percentual dos Linfócitos Totais*		
				Sangue	Linfonodo	Baço
Linfócitos T αβ						
Linfócitos T auxiliares $CD4^+$	Ativação da célula B (imunidade humoral) Ativação de macrófago (imunidade celular) Estimulação da inflamação	Heterodímeros αβ Especificidades diversas para complexos peptídeo-MHC classe II	$CD3^+$, $CD4^+$, $CD8^-$	35–60†	50–60	50–60
Linfócitos T citotóxicos $CD8^+$	*Killing* de células infectadas com microrganismos, células tumorais	Heterodímeros αβ Especificidades diversas para complexos peptídeo-MHC de classe I	$CD3^+$, $CD4^-$, $CD8^+$	15–40	15–20	10–15
Células T reguladoras	Supressão da função de outras células T (regulação das respostas imunes, manutenção da autotolerância)	Heterodímeros αβ Específico para autoantígenos e alguns antígenos estranhos (complexos peptídeo-MHC classe II)	$CD3^+$, $CD4^+$, $CD25^+$, $FoxP3^+$ (mais comum, mas também outros fenótipos)	Raro	10	10
Células T *natural killer* (NKT)	Supressão ou ativação de respostas imunes inata e adaptativa	Heterodímeros αβ Especificidade limitada para complexos glicolipídio-CD1	CD56, CD16 (receptor de Fc para IgG), CD3	5-30	Raro	10
Linfócitos T γδ	Funções auxiliar e citotóxica (imunidade inata)	Heterodímeros γδ Especificidades limitadas para antígenos peptídicos e não peptídicos	$CD3^+$, CD4 e CD8 variáveis	Raro	Raro	Raro
Células T invariantes associadas à mucosa (MAIT)	Funções auxiliar e citotóxica no intestino	Heterodímeros αβ Especificidade limitada para metabólitos bacterianos	$CD3^+$, $CD8^+$ (maioria)	5	Raro	Raro
Linfócitos B						

				Percentual dos Linfócitos Totais*		
Classe	**Funções**	**Receptor Antigênico e Especificidade**	**Marcadores Fenotípicos Selecionados**	**Sangue**	**Linfonodo**	**Baço**
Células B foliculares	Produção de anticorpo (imunidade humoral)	Ig de superfície Especificidades diversas para muitos tipos de moléculas	Receptores de Fc, MHC de classe II, CD19, CD23	5–20	20–25	40–45
Células B da zona marginal	Produção de anticorpo (imunidade humoral)	Ig de superfície Especificidades limitadas para um conjunto restrito de moléculas	IgM, CD27	2–3	3–5	7–10
Células B-1	Produção de anticorpo (imunidade humoral)	Especificidades limitadas para um conjunto restrito de moléculas	IgM, CD43, CD20, CD27, porém $CD70^-$	1–3%	Raro	Raro

Essa tabela resume as principais propriedades dos linfócitos do sistema imune adaptativo. Foram excluídas as células *natural killer* e outras células linfoides inatas, que são discutidas no Capítulo 4.

Ig, imunoglobulina; *MHC*, complexo principal de histocompatibilidade.

* Os percentuais são aproximados, baseados em dados do sangue periférico humano e de órgãos linfoides murinos. No fígado, quase 50% dos linfócitos são células MAIT.

† Na maioria dos casos, a razão $CD4^+CD8^-$:$CD8^+CD4^-$ é aproximadamente 2:1.

Subpopulações de Linfócitos B

As subpopulações de linfócitos B e T existentes apresentam diferentes características fenotípicas e funcionais. As principais subpopulações de células B são células B foliculares, células B da zona marginal e células B-1, cada uma das quais encontrada em localizações anatômicas distintas junto aos tecidos linfoides. As células B foliculares, o tipo de células B mais numeroso, são encontradas nos tecidos linfoides e no sangue. Elas expressam conjuntos de anticorpos altamente diversificados e clonalmente distribuídos, que atuam como receptores antigênicos de superfície celular e como moléculas efetoras-chave secretadas de imunidade adaptativa humoral. As células B foliculares originam a maioria dos anticorpos de alta afinidade e as células B de memória que protegem as pessoas contra infecções repetidas pelos mesmos microrganismos. Em contraste, as células B-1 e as células B da zona marginal constituem uma minoria das células B e produzem anticorpos com diversidade muito limitada. As células B-1 são encontradas principalmente em tecidos de mucosa, bem como nas cavidades peritoneal e pleural, enquanto as células B da zona marginal estão presentes principalmente no baço.

Subpopulações de Linfócitos T

As duas subpopulações principais de células T são os linfócitos T auxiliares $CD4^+$ e os CTLs $CD8^+$. Expressam receptores antigênicos chamados receptores de célula T (TCRs, do inglês, *T cell receptor*) $\alpha\beta$ e atuam como mediadores da imunidade celular. As células

T auxiliares $CD4^+$ secretam citocinas que atuam em várias outras células, incluindo outros linfócitos T, células B e macrófagos. Os CTLs $CD8^+$ reconhecem e matam células infectadas por vírus, bem como outros microrganismos capazes de viver dentro de células hospedeiras, e também matam células cancerígenas. As células T reguladoras $CD4^+$ constituem uma terceira subpopulação de células T expressando receptores $\alpha\beta$, e sua função é inibir as respostas imunes. Adicionalmente, as células T *natural killer* (NKT), células T invariantes associadas à mucosa (MAIT, do inglês, *mucosa associated invariant T cells*) e células T $\gamma\delta$ constituem três subpopulações numericamente menores de células T que expressam TCRs com diversidade limitada, análoga aos anticorpos produzidos pelas células B-1. As funções dessas classes de células B e T serão discutidas em capítulos subsequentes.

Desenvolvimento dos Linfócitos

Após o nascimento, os linfócitos, assim como todas as células sanguíneas, surgem a partir de células-tronco existentes na medula óssea. A origem dos linfócitos a partir de progenitores na medula óssea foi demonstrada pela primeira vez por experimentos feitos com quimeras de medula óssea induzidas por radiação. Os linfócitos e seus precursores são radiossensíveis e morrem com doses altas de radiação γ. Se um camundongo de uma linhagem consanguínea é irradiado e então recebe injeção de células de medula óssea ou pequenos números de CTHs de outra linhagem que possa ser distinguida do hospedeiro, todos os linfócitos que se desenvolvem subsequentemente são derivados das células de medula óssea ou CTHs do doador. Essas abordagens se mostraram úteis para examinar a maturação de linfócitos e outras células sanguíneas.

Todos os linfócitos passam por estágios de maturação complexos durante os quais expressam receptores antigênicos e adquirem as características funcionais e fenotípicas das células maduras (Fig. 2.6). Os sítios anatômicos onde ocorrem as principais etapas do desenvolvimento dos linfócitos são chamados órgãos linfoides geradores (ou primários, ou ainda, centrais). Esses órgãos são a medula óssea, onde surgem os precursores de linfócitos e células B maduras; e o timo, onde as células T amadurecem. Discutiremos os processos de maturação dos linfócitos B e T de forma bem mais detalhada no Capítulo 8.

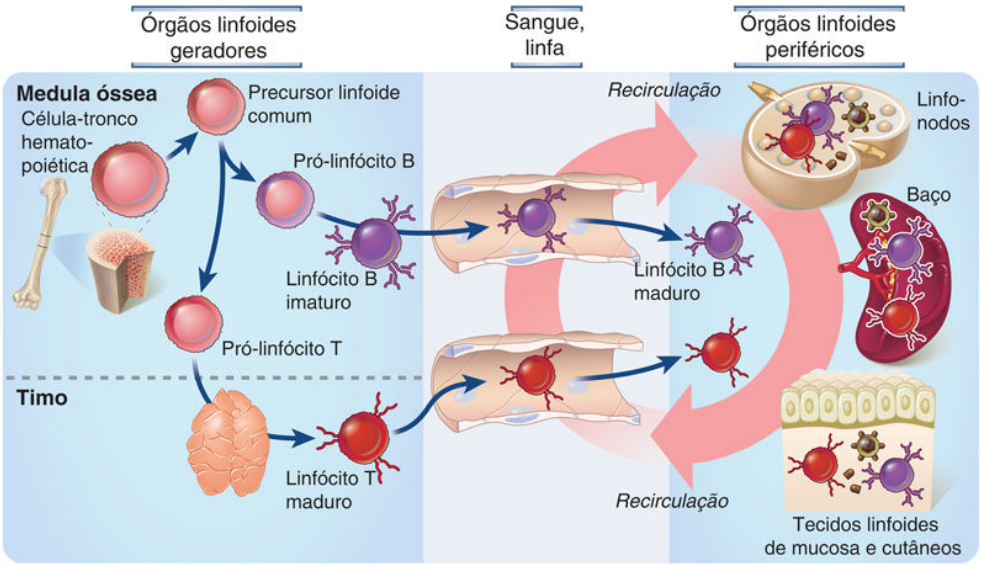


FIGURA 2.6 Maturação de linfócitos.
Os linfócitos se desenvolvem a partir de células-tronco da medula óssea, amadurecem nos órgãos linfoides geradores (medula óssea e timo, para células B e T, respectivamente), e então circulam através do sangue para os órgãos linfoides secundários (linfonodos, baço, tecidos linfoides regionais como o MALT). As células T completamente maduras deixam o timo, porém as células B imaturas deixam a medula óssea e completam sua maturação nos órgãos linfoides secundários ou voltam por drenagem linfática para o sangue e recirculam através de outros órgãos linfoides secundários.

Populações de Linfócitos Distinguidas pela História de Exposição aos Antígenos

Os linfócitos* naive *que emergem da medula óssea ou do timo migram para os órgãos linfoides secundários, onde são ativados por antígenos para então proliferarem e se diferenciarem em células efetoras e de memória (Fig. 2.7 **e** Tabela 2.5). Os linfócitos maduros que emergem da medula óssea ou do timo são chamados **linfócitos *naive*.** Os linfócitos *naive* são funcionalmente quiescentes, mas após a ativação pelo antígeno, proliferam e sofrem alterações drásticas no fenótipo e na atividade funcional. A ativação dos linfócitos *naive* segue uma série de etapas sequenciais que começam com a síntese de proteínas novas, como os receptores de citocina e as citocinas, as quais são necessárias para muitas das alterações subsequentes. As células então entram em proliferação, resultando em expansão dos clones antígeno-específicos, em um processo chamado **expansão clonal**. Em algumas infecções, o número de células T microrganismo-específicas pode aumentar em mais de 50.000 vezes em 1 semana, enquanto o número de células B específicas pode aumentar em até 5.000 vezes. Essa rápida expansão clonal dos linfócitos microrganismo-específicos se faz necessária para acompanhar a capacidade dos microrganismos de se replicar rapidamente. Concomitantemente com a proliferação, os linfócitos antígeno-estimulados se diferenciam em **células efetoras**, cuja função é eliminar o antígeno. Outra progênie de linfócitos T e B antígeno-estimulados se diferenciam em **células de memória** de vida longa, cuja função é mediar as respostas rápidas e intensificadas (i. e., secundárias) a

exposições subsequentes aos antígenos. Os linfócitos *naive,* efetores e de memória podem ser distinguidos por vários critérios funcionais e fenotípicos (Tabela 2.5).

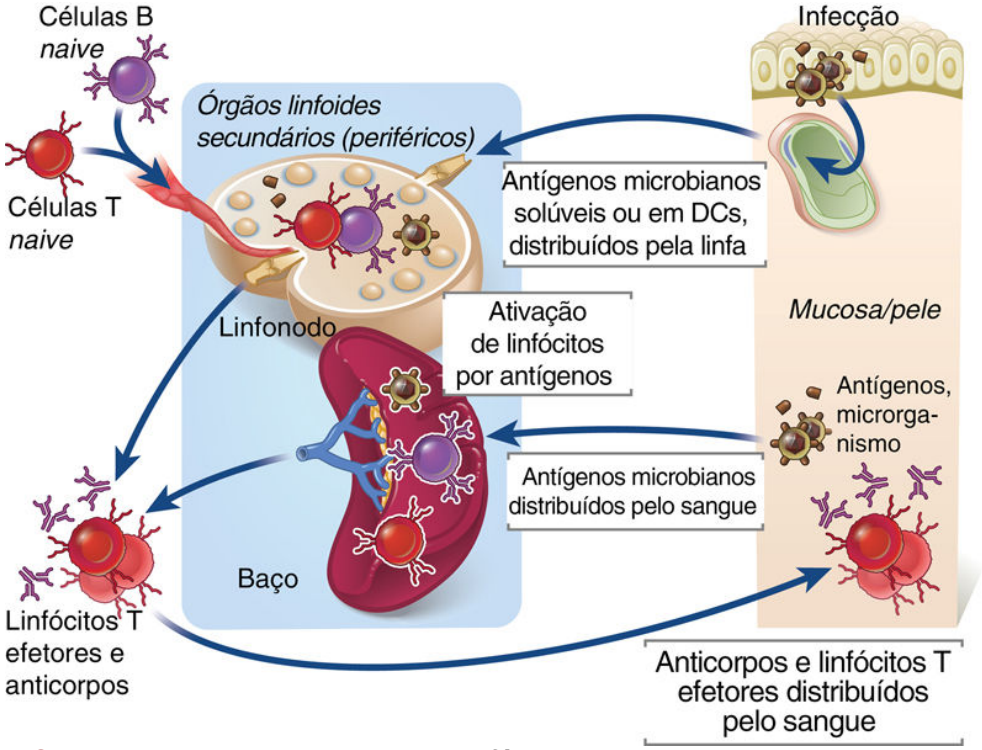


FIGURA 2.7 Etapas da ativação do linfócito.
As células T *naive* que emergem do timo e as células B imaturas emergentes da medula óssea migram para os órgãos linfoides secundários, incluindo os linfonodos e o baço. Nesses locais, as células B completam sua maturação; as células B e T ativadas por antígenos se diferenciam em linfócitos efetores e de memória. Alguns linfócitos efetores e de memória migram para sítios de infecção em tecidos periféricos. Os anticorpos secretados pelas células B efetoras no linfonodo, baço e medula óssea (não mostrado) entram no sangue e são distribuídos para os sítios de infecção. *DC*, células dendríticas.

Tabela 2.5

Características dos Linfócitos *Naive*, Efetor e de Memória

	Naive	Ativado ou Efetor	Memória
Linfócitos T			
Migração	Preferencialmente para órgãos linfoides secundários	Preferencialmente para tecidos inflamados	Preferencialmente para tecidos inflamados, tecidos de mucosa
Frequência de células responsivas a um antígeno particular	Muito baixa	Alta	Baixa
Funções efetoras	Nenhuma	Secreção de citocina; atividade citotóxica	Nenhuma
Ciclo celular	Não	Sim	±
Expressão de proteína de superfície			
IL-2R (CD25)	Baixa	Alta	Baixa
L-selectina (CD62L)	Alta	Baixa	Variável
IL-7R (CD127)	Moderadamente alta	Baixa	Alta
Moléculas de adesão: integrinas, CD44	Baixa	Alta	Alta
Receptor de quimiocina: CCR7	Alta	Baixa	Variável
Principal isoforma de CD45 (apenas humanos)	CD45RA	CD45RO	CD45RO; variável
Morfologia	Pequeno; citoplasma escasso	Grande; mais citoplasma	Pequeno
Linfócitos B			
Isotipo de Ig de membrana	IgM e IgD	Frequentemente, IgG, IgA, IgE	Frequentemente, IgG, IgA, IgE
Afinidade da Ig produzida	Relativamente baixa	Aumenta durante a resposta imune	Relativamente alta
Função efetora	Nenhuma	Secreção de anticorpo	Nenhuma
Morfologia	Pequeno; citoplasma escasso	Grande; mais citoplasma; plasmócito	Pequeno
Expressão de proteína de superfície			
Receptor de quimiocina: CXCR5	Alta	Baixa	?
CD27	Baixa	Alta	Alta

Ig, imunoglobulina; *IL*, interleucina.

Os detalhes da ativação e diferenciação dos linfócitos, bem como as funções de cada uma dessas populações, serão abordados adiante, neste livro. Aqui, serão resumidas as

características fenotípicas de cada população.

Linfócitos *Naive*

Os linfócitos *naive* são células T ou B maduras que jamais encontraram um antígeno estranho. (O termo *naive* se refere à ideia de que essas células são imunologicamente inexperientes.) Os linfócitos *naive* são encontrados na circulação e nos órgãos linfoides periféricos. Os linfócitos *naive* e os linfócitos de memória são chamados, ambos, de linfócitos em repouso, por não estarem se dividindo ativamente nem desempenhando funções efetoras. Os linfócitos B e T *naive* (e de memória) não podem ser prontamente distinguidos com base na morfologia e ambos são frequentemente chamados de pequenos linfócitos quando observados em esfregaços sanguíneos. Um pequeno linfócito mede 8-10 μm de diâmetro, tem um núcleo amplo contendo heterocromatina densa e uma borda delgada de citoplasma contendo algumas mitocôndrias, ribossomos e lisossomos, todavia sem nenhuma organela especializada visível (Fig. 2.8). Antes da estimulação antigênica, os linfócitos *naive* estão em um estado de repouso, ou estágio G0 do ciclo celular. Em resposta à estimulação, essas células entram no estágio G1 do ciclo celular antes de seguirem para a divisão. Os linfócitos ativados são maiores (10-12 μm de diâmetro), têm mais citoplasma e organelas, e quantidades aumentadas de RNA citoplasmático, sendo chamados linfócitos grandes ou linfoblastos (Fig. 2.8).

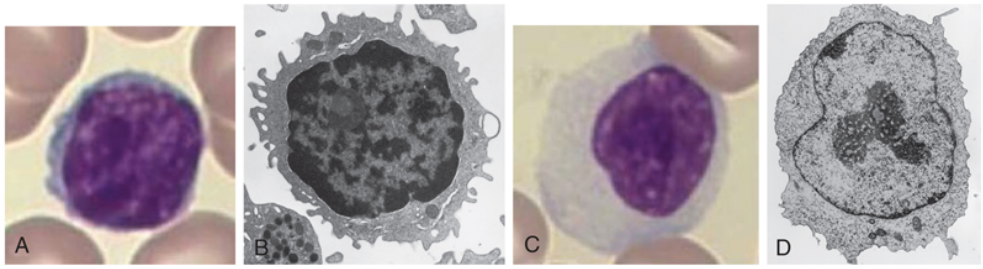


FIGURA 2.8 Morfologia de linfócitos.
A, Micrografia de luz de um linfócito em um esfregaço de sangue periférico. *(Cortesia de Jean Shafer, Department of Pathology, University of California, San Diego. Copyright © 1995-2008, Carden Jennings Publishing Co., Ltd.)* **B,** Micrografia eletrônica de um pequeno linfócito. *(Cortesia de Dr. Noel Weidner, Department of Pathology, University of California, San Diego.)* **C,** Micrografia de luz de um linfócito grande (linfoblasto). *(Cortesia de Jean Shafer, Department of Pathology, University of California, San Diego. Copyright © 1995–2008, Carden Jennings Publishing Co., Ltd.)* **D,** Micrografia eletrônica de um linfócito grande (linfoblasto). (De Fawcett DW: Bloom and Fawcett: A Textbook of Histology, 12th ed, New York, NY, 1994, Chapman & Hall. Com permissão da Springer Science and Business Media.)

Os linfócitos *naive* tipicamente vivem 1 a 3 meses. Sua sobrevida requer sinais fornecidos por receptores antigênicos e citocinas. Foi postulado que o receptor antigênico das células B *naive* gera sinais de sobrevida mesmo na ausência de antígeno. Os linfócitos T *naive* reconhecem fracamente vários autoantígenos, de modo suficiente para induzir sinais de sobrevivência, mas sem deflagrar os sinais mais fortes que se fazem necessários para iniciar a proliferação e diferenciação em células efetoras. A necessidade de expressão do receptor antigênico para manter o *pool* de linfócitos *naive*

nos órgãos linfoides secundários foi demonstrada em estudos realizados com camundongos, nos quais os genes codificadores de receptores antigênicos de células B e de células T foram deletados após a maturação dos linfócitos. Nesses estudos, os linfócitos *naive* que perderam os receptores antigênicos morreram em 2 ou 3 semanas.

As citocinas também são essenciais para a sobrevivência de linfócitos *naive*, e as células T e B *naive* expressam receptores para essas citocinas. Dentre essas citocinas, as mais importantes são a IL-7, que promove a sobrevivência e o baixo nível de ciclagem de células T *naive*; e o fator ativador de célula B (BAFF, do inglês, *B cell-activating factor*), uma citocina pertencente à família do fator de necrose tumoral (TNF, do inglês, *tumor necrosis factor*), que é necessária à sobrevivência da célula B *naive*.

No estado estável, ou homeostasia, o *pool* de linfócitos *naive* é mantido em um número razoavelmente constante graças ao equilíbrio entre a morte espontânea dessas células e a produção de novas células nos órgãos linfoides geradores. Qualquer perda de linfócitos leva à proliferação compensatória daqueles remanescentes e a um débito aumentado a partir dos órgãos geradores. Essa resposta do sistema imune para restabelecer um numero total de linfócitos é chamada proliferação homeostática. Se as células *naive* forem transferidas para um hospedeiro deficiente em linfócitos (dito linfopênico), os linfócitos transferidos começam a proliferar e aumentam em número até alcançarem aproximadamente os números de linfócitos encontrados em animais normais. Esse processo ocorre na situação clínica do transplante de células-tronco hematopoiéticas para tratamento de algumas malignidades e doenças genéticas. A proliferação homeostática parece ser dirigida pelos mesmos sinais — reconhecimento fraco de alguns autoantígenos e citocinas, principalmente IL-7 — requeridos para a manutenção dos linfócitos *naive*.

Linfócitos Efetores

Após serem ativados, os linfócitos *naive* se tornam maiores e começam a proliferar. Algumas dessas células se diferenciam em linfócitos efetores que têm a capacidade de produzir moléculas capazes de eliminar antígenos estranhos. Os linfócitos T efetores incluem as células T auxiliares $CD4^+$ e os CTLs $CD8^+$, enquanto os linfócitos B efetores são células secretoras de anticorpo, principalmente plasmócitos. As células T auxiliares ativam linfócitos B, macrófagos e DCs via moléculas de superfície, como CD40-ligante (CD154), que engajam CD40 em outras células, e citocinas secretadas que se ligam a receptores existentes nessas células. Os CTLs têm grânulos citoplasmáticos repletos de proteínas que, quando liberadas, matam as células reconhecidas pelos CTLs, as quais geralmente são células infectadas por vírus ou células tumorais. Ambas as células T efetoras, $CD4^+$ e $CD8^+$, geralmente expressam proteínas de superfície indicativas de ativação recente, incluindo CD25 (um componente do receptor do fator de crescimento de célula T, a IL-2), e padrões alterados de moléculas mediadores de migração (selectinas, integrinas e receptores de quimiocinas, discutidos no Capítulo 3). Enquanto as células T *naive* contam com a respiração mitocondrial para gerar sua reserva de energia, o ATP, as células T efetoras mudam para a glicólise aeróbica. Esse processo gera menos ATP por molécula de oxigênio, mas produz aminoácidos e lipídios que são necessários para sustentar a proliferação e a função das células efetoras (Capítulo 7). A maioria dos linfócitos T efetores diferenciados tem vida curta e não é autorrenovável.

Muitas células B secretoras de anticorpo são morfologicamente identificáveis em cortes de tecido corados como **plasmócitos**. Essas células têm núcleos característicos

excentricamente posicionados na célula, com a cromatina distribuída em torno da membrana nuclear, em um padrão de roda; citoplasma abundante contendo retículo endoplasmático rugoso denso que é o sítio onde os anticorpos (e outras proteínas secretadas e de membrana) são sintetizados; e complexos de Golgi perinucleares distintos, onde as moléculas de anticorpo são convertidas em suas formas finais e empacotadas para secreção (Fig. 2.9). Estima-se que pelo menos a metade do RNA mensageiro existente nessas células codifique proteínas de anticorpo, e um único plasmócito pode secretar milhares de moléculas de anticorpo por segundo. Os plasmócitos se desenvolvem em órgãos linfoides e em sítios de infecção, e alguns migram para a medula óssea ou para os tecidos de mucosa, onde podem viver e secretar anticorpos por longos períodos após a indução da resposta imune e até mesmo após a eliminação do antígeno. Os **plasmablastos** são células circulantes secretoras de anticorpos que exibem características de plasmócitos; podem ser identificados pela expressão de baixos níveis de marcadores típicos de célula B, CD19 e CD20, e altos níveis de moléculas como CD27 e CD38. No estado basal, há poucos plasmablastos no sangue, os quais derivam principalmente de tecidos de mucosa e secretam um tipo de anticorpo chamado IgA (Capítulos 12 e 13). No entanto, dentro de 1 semana após uma infecção repetida por um microrganismo previamente encontrado, um amplo número de plasmablastos podem ser detectados no sangue, os quais secretam anticorpos IgG e derivam de células B de memória. Alguns desses plasmablastos circulantes estão provavelmente transitando de órgãos linfoides secundários para a medula óssea e tecidos de mucosa, onde permanecerão como plasmócitos de vida longa.

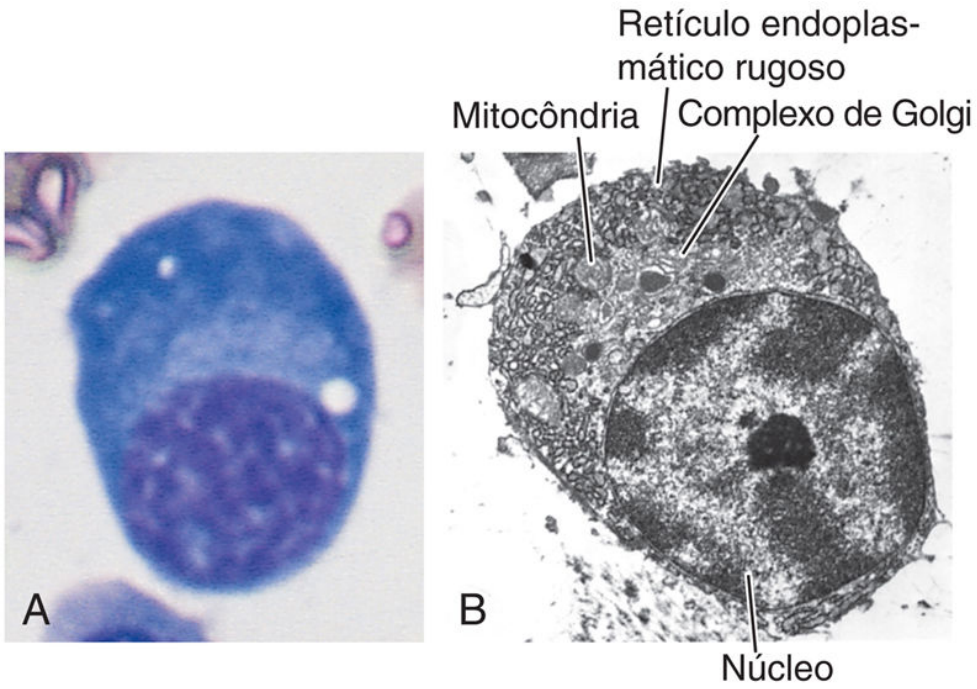


FIGURA 2.9 Morfologia de plasmócitos.
A, Micrografia de luz de um plasmócito no tecido. **B,** Micrografia eletrônica de um plasmócito. (Cortesia de Dr. Noel Weidner, Department of Pathology, University of California, San Diego.)

Linfócitos de Memória

As células de memória são geradas durante as infecções, mas podem sobreviver em um estado funcionalmente quiescente ou de ciclagem lenta, durante meses ou anos após a eliminação do microrganismo. Podem ser identificadas por sua expressão de proteínas de superfície que as distingue dos linfócitos *naive* e dos linfócitos efetores recém-ativados, embora ainda não esteja claro quais destas proteínas de superfície são marcadores definitivos de populações de memória (Tabela 2.5). As células T de memória, assim como as células *naive* e diferentemente das células T efetoras, expressam moléculas de superfície que promovem sua migração para os sítios de infecção localizados em qualquer parte do corpo (Capítulo 3). Em seres humanos, a maioria das células T *naive* expressam uma isoforma de 200 kDa de uma molécula de superfície chamada CD45, a qual contém um segmento codificado por um éxon designado pela letra "A" e, portanto, chamado CD45RA (que significa "A-restrito"). Em contraste, a maioria das células T ativadas e de memória expressam uma isoforma de 180 kDa de CD45 na qual o éxon A do RNA foi eliminado. Esta isoforma é chamada CD45RO. Entretanto, essa forma de distinguir entre células T *naive* e células T de memória é imperfeita, tendo sido relatada a interconversão entre $CD45RA^+$ e $CD45RO^+$.

A frequência de células de memória aumenta com a idade, porque os indivíduos são continuamente expostos a microrganismos ambientais. As células T de memória constituem menos de 5% das células T no sangue periférico de um recém-nascido, mas representam pelo menos 50% em um adulto (Fig. 2.10). Conforme os indivíduos envelhecem, o acúmulo gradativo de células de memória compensa o débito diminuído

de novas células T *naive* do timo, o qual passa a involuir após a puberdade, conforme discutido adiante.

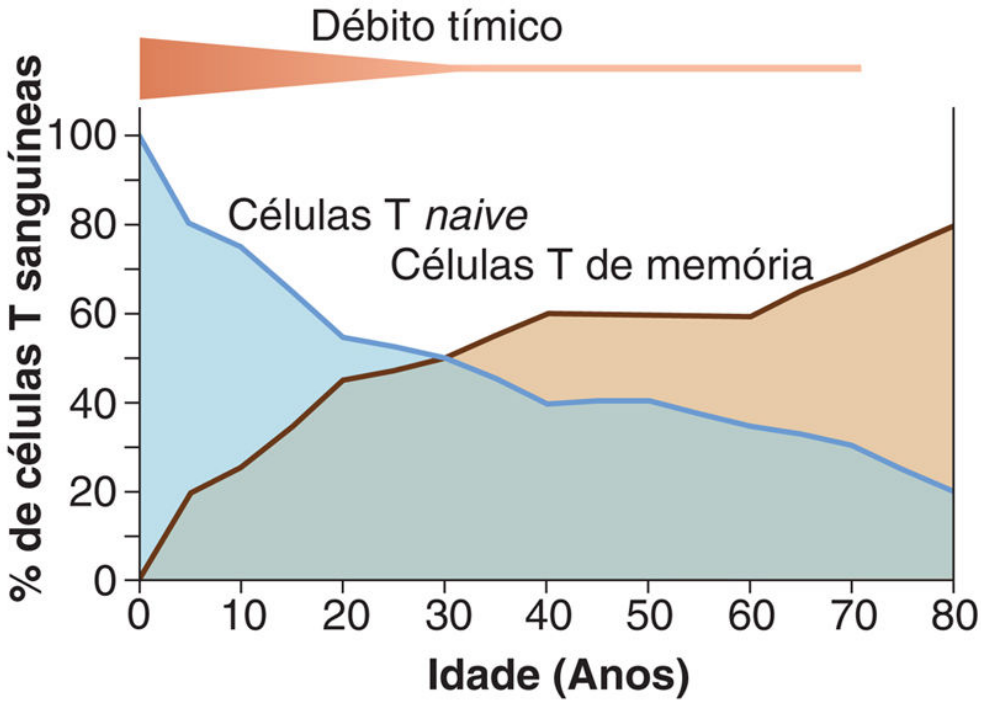


FIGURA 2.10 Mudança nas proporções de células T *naive* e de memória com o avanço da idade.
As proporções de células T *naive* e de memória são baseadas em dados de múltiplos indivíduos sadios. A estimativa do débito tímico é uma aproximação. (Cortesia de Dr. Donna L. Farber, Columbia University College of Physicians and Surgeons, New York.)

Os linfócitos B de memória podem expressar certas classes (isotipos) de Ig de membrana, como IgG, IgE ou IgA, como resultado da troca de isotipo (*switching*), enquanto as células B *naive* expressam apenas IgM e IgD (Capítulos 5 e 12). Em seres humanos, a expressão de CD27 é um marcador de células B de memória.

As células de memória parecem ser heterogêneas e há subpopulações que diferem especialmente com relação à sua localização e propriedades migratórias. As células T e B de memória voltarão a ser discutidas nos Capítulos 9 e 12, respectivamente.

As características distintivas dos linfócitos *naive*, efetor e de memória refletem diferentes programas de expressão gênica regulados por fatores de transcrição e alterações epigenéticas estáveis, incluindo acetilação e metilação de histonas, bem como remodelamento de cromatina. Exemplificando, um fator de transcrição chamado fator tipo Kruppel 2 (KLF-2, do inglês, *Kruppel-like factor 2*) é requerido para manutenção do fenótipo de célula T *naive*. Os fenótipos de tipos funcionalmente diferentes de células T efetoras $CD4^+$, chamadas células Th1, Th2 e Th17, dependem dos fatores de transcrição T-bet, GATA-3 e RORγT, respectivamente, bem como de alterações epigenéticas em *loci* de genes de citocina (Capítulo 10). Outros fatores de transcrição são requeridos para manter os fenótipos das células B e T de memória. Nosso conhecimento sobre os

determinantes moleculares do fenótipo do linfócito ainda é incompleto e está evoluindo.

Células *Natural Killer* e Células Linfoides Inatas Secretoras de Citocinas

O sistema imune inato inclui várias subpopulações de células derivadas da medula óssea relacionadas entre si pelo desenvolvimento, com morfologia linfoide e funções efetoras similares as das células T, porém desprovidas de receptores antigênicos de célula T. As principais funções destas células são conferir defesa inicial contra patógenos infecciosos; reconhecer as células do hospedeiro estressadas e lesadas, e ajudar a eliminá-las; e influenciar a natureza da resposta imune adaptativa subsequente. As células ***natural killer*** (NK) têm funções citotóxicas similares as dos CTLs $CD8^+$. Essas células circulam no sangue e estão presentes em vários tecidos linfoides. As **células linfoides inatas** (ILCs, do inglês, *innate lymphoid cells*) secretoras de citocinas têm funções efetoras similares as das células T auxiliares $CD4^+$. Essas ILCs podem ser agrupadas em três subpopulações principais, com base nas citocinas que secretam, de modo análogo às três subpopulações de células T auxiliares $CD4^+$ distinguidas por suas respectivas citocinas, descritas no Capítulo 10. As ILCs são raras no sangue e estão presentes sobretudo nos tecidos, especialmente nos tecidos de mucosa, como o pulmão e os intestinos. O progenitor linfoide comum na medula óssea que origina os linfócitos T e B também origina um precursor comum de células NK e ILCs secretoras de citocinas, sendo que ambas, células NK e ILCs, compartilham a expressão de vários marcadores linhagem-específicos e fatores de transcrição. As células indutoras de tecido linfoide são um tipo de ILC que produz as citocinas linfotoxina e TNF, e são essenciais à formação dos tecidos linfoides secundários organizados, descrita mais adiante neste mesmo capítulo. As células NK e as ILCs são descritas com mais detalhes no Capítulo 4.

Anatomia e Funções dos Tecidos Linfoides

Os órgãos linfoides geradores, também chamados órgãos linfoides primários ou centrais, incluindo a medula óssea e o timo, são os sítios onde os linfócitos expressam pela primeira vez os receptores antigênicos e alcançam a maturidade fenotípica e funcional (Fig. 2.6). A medula óssea e o timo são os sítios de maturação das células B e T, respectivamente. Os linfócitos B amadurecem parcialmente na medula óssea, entram na circulação, migram para o baço (onde completam sua maturação) e então povoam os órgãos linfoides secundários. Os linfócitos T amadurecem no timo e então entram na circulação e migram para os órgãos linfoides periféricos. Duas funções importantes compartilhadas pelos órgãos geradores são o fornecimento de fatores de crescimento e outros sinais moleculares necessários à maturação dos linfócitos; e a apresentação de autoantígenos para reconhecimento e seleção dos linfócitos em maturação (Capítulo 8).

Os órgãos linfoides secundários (ou periféricos), incluindo os linfonodos, baço e componentes do sistema imune de mucosa, são os locais onde as respostas dos linfócitos a antígenos estranhos são iniciadas e desenvolvidas (Fig. 2.6). Esses órgãos são anatomicamente organizados de modo a facilitar as interações celulares necessárias à iniciação das respostas imunes adaptativas. Nesses órgãos, os linfócitos e as APCs estão localizados e concentrados em áreas anatomicamente definidas, que também são os sítios para onde os antígenos estranhos são transportados e concentrados. Isso garante que antígenos e os linfócitos *naive* antígeno-específicos fiquem localizados nas mesmas regiões, de modo a possibilitar a iniciação das respostas imunes adaptativas. A anatomia dos órgãos linfoides também permite que as células B e T interajam após serem ativadas por antígenos. Conforme discutiremos no Capítulo 3, muitos linfócitos estão em constante recirculação e troca entre a circulação, órgãos linfoides secundários e tecidos.

Medula Óssea

A medula óssea é o sítio de geração de células sanguíneas circulantes, incluindo hemácias, granulócitos e monócitos, bem como o sítio de maturação da célula B. A geração de todas as células sanguíneas, chamada **hematopoiese** (Fig. 2.11), ocorre inicialmente durante o desenvolvimento fetal, nas ilhotas sanguíneas junto ao saco vitelínico e mesênquima para-aórtico, mudando então para o fígado entre o 3° e o 4° mês de gestação, até finalmente seguir para a medula óssea. Ao nascimento, a hematopoiese ocorre nos ossos ao longo de todo o esqueleto, porém vai se tornando cada vez mais restrita à medula dos ossos chatos, de modo que na puberdade, a hematopoiese ocorre principalmente no esterno, vértebras, ossos ilíacos e costelas. A medula vermelha encontrada nesses ossos consiste em uma estrutura esponjosa reticular localizada entre as trabéculas de ossos longos. Os espaços existentes nessa estrutura contêm uma rede de sinusoides cheios de sangue revestidos por células endoteliais presas a uma membrana basal descontínua. Fora dos sinusoides, há aglomerados de precursores de células sanguíneas em vários estágios de desenvolvimento, bem como células adiposas. Os precursores de células sanguíneas amadurecem e migram pela membrana basal sinusoidal e entre as células endoteliais, para entrar na circulação vascular. Quando a medula óssea é lesada ou quando há uma

demanda excepcional pela produção de novas células sanguíneas, o fígado e o baço frequentemente se tornam sítios de hematopoiese extramedular.

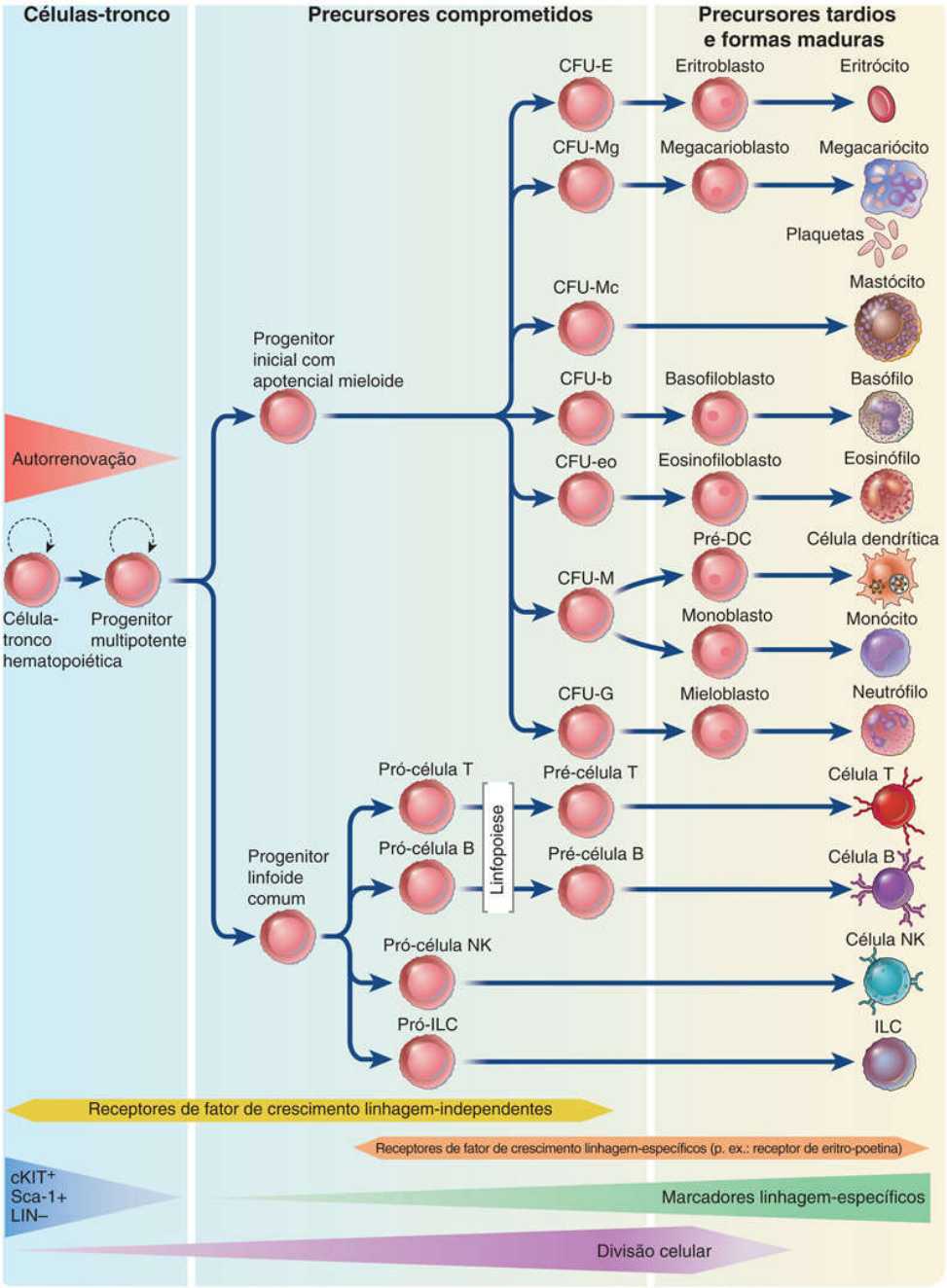


FIGURA 2.11 Hematopoiese.
O desenvolvimento das principais linhagens de células sanguíneas é ilustrado nesta árvore hematopoiética. As principais citocinas direcionadoras da maturação de diferentes linhagens são descritas na Tabela 2.6. O desenvolvimento de linfócitos é descrito adiante, neste mesmo capítulo, e no Capítulo 8. *ILCs*, células linfoides inatas; *NK*, *natural killer*.

As hemácias, granulócitos, monócitos, células dendríticas, mastócitos, plaquetas, linfócitos B e T, e ILCs se originam, todos, de uma célula-tronco hematopoiética (CTH) comum na medula óssea (Fig. 2.11). As CTHs são multipotentes, ou seja, uma única CTH pode gerar todos os diferentes tipos de células sanguíneas maduras. As CTHs

também são autorrenováveis, porque a cada divisão pelo menos uma célula-filha mantém as propriedades de uma célula-tronco, enquanto as demais podem se diferenciar em uma linhagem em particular (chamada divisão assimétrica). As CTHs podem ser identificadas pela presença de marcadores de superfície, incluindo as proteínas CD34 e c-Kit, e pela ausência de marcadores linhagem-específicos expressos nas células maduras. As CTHs são mantidas em nichos anatômicos microscópicos especializados junto à medula óssea. Nesses locais, as células estromais não hematopoiéticas fornecem sinais contato-dependentes e fatores de crescimento requeridos para a ciclagem contínua das CTHs. Estas originam dois tipos de células progenitoras multipotentes, uma que gera células linfoides e algumas células mieloides, e outra que produz mais células mieloides, eritrócitos e plaquetas. O progenitor mieloide-linfoide comum origina precursores comprometidos de células das linhagens T, B e ILC, bem como algumas células mieloides. Os progenitores mieloide-megacariócito-eritroide comuns originam precursores comprometidos com as linhagens eritroide, megacariocítica, granulocítica e monocítica, os quais originam, respectivamente, hemácias maduras, plaquetas, granulócitos (neutrófilos, eosinófilos, basófilos) e monócitos. A maioria das DCs surge de um ramo da linhagem monocítica. Os progenitores de mastócitos imaturos surgem a partir de um precursor granulócito/monócito comum, deixam a medula óssea, e amadurecem em mastócitos nos tecidos periféricos.

A proliferação e maturação de células precursoras na medula óssea são estimuladas por citocinas. Muitas dessas citocinas são chamadas **fatores estimuladores de colônia**, por terem sido inicialmente avaliados por sua capacidade de estimular o crescimento e o desenvolvimento de várias colônias leucocitárias ou eritroides a partir da medula óssea. As citocinas hematopoiéticas são produzidas por células estromais e macrófagos na medula óssea, fornecendo assim o ambiente local para a hematopoiese. Também são produzidas por linfócitos T antígeno-estimulados e macrófagos ativados por citocina ou microrganismo, fornecendo um mecanismo para reposição dos leucócitos que podem vir a ser consumidos durante as reações imunes e inflamatórias. Os nomes e propriedades das principais citocinas hematopoiéticas são listados na Tabela 2.6.

Tabela 2.6

Citocinas Hematopoiéticas para Células Imunes

Citocina	Tamanho	Principais Fontes Celulares	Principais Células Imaturas-alvo	Principais Populações Celulares Induzidas
Fator da célula-tronco (c-Kit-ligante)	24 kDa	Células estromais da medula óssea	CTHs	Todas
Interleucina-7 (IL-7)	25 kDa	Fibroblastos, células estromais da medula óssea	Progenitores linfoides imaturos	Linfócitos T
Interleucina-3 (IL-3)	20-26 kDa	Células T	Progenitores imaturos	Todas
GM-CSF	18-22 kDa	Células T, macrófagos, células endoteliais, fibroblastos	Progenitores mieloides imaturos e comprometidos, macrófagos maduros	Granulócitos e monócitos, ativação de macrófago
M-CSF	Dímero de 70-90 kDa; subunidades de 40 kDa	Macrófagos, células endoteliais, células da medula óssea, fibroblastos	Progenitores comprometidos	Monócitos
G-CSF	19 kDa	Macrófagos, fibroblastos, células endoteliais	Progenitores granulócitos comprometidos	Granulócitos
Flt-3-ligante	30 kDa	Células estromais da medula óssea	CTHs, DC e progenitores de célula B	DCs clássicas e plasmacitoides, células B

DC, células dendríticas; *G-CSF*, fator estimulador de colônia de granulócitos; *GM-CSF*, fator estimulador de colônia de granulócito-monócito; *CTHs*, células-tronco hematopoiéticas; *IL*, interleucina; *M-CSF*, fator estimulador de colônia de monócito.

Além das células-tronco autorrenováveis e suas progênies em diferenciação, a medula contém numerosos plasmócitos secretores de anticorpo de vida longa. Essas células são geradas em órgãos linfoides periféricos, como consequência da estimulação de células B por antígenos e células T auxiliares, e então migram para a medula óssea. Adicionalmente, alguns linfócitos T de memória de vida longa migram e podem residir na medula óssea.

Timo

O timo é o local de maturação da célula T. Trata-se de um órgão bilobado situado no mediastino anterior, que involui após a puberdade de modo a se tornar indetectável nos adultos. Cada lobo é dividido em múltiplos lóbulos por septos fibrosos, e cada lóbulo consiste em um córtex externo e uma medula interna (Fig. 2.12). O córtex contém uma coleção densa de linfócitos T, enquanto a medula mais clara é mais esparsamente povoada por linfócitos. A medula também contém macrófagos e DCs. Dispersas por todo o timo, há células epiteliais não linfoides contendo citoplasma abundante. As **células epiteliais corticais** produzem IL-7, necessária ao desenvolvimento inicial da célula T. Uma subpopulação distinta de células epiteliais encontrada apenas na medula,

chamadas **células epiteliais medulares tímicas** (MTECs, do inglês, *medullary thymic epithelial cells*), exercem papel especial na apresentação de autoantígenos para as células T em desenvolvimento, causando sua eliminação. Esse é um mecanismo que garante que o sistema imune permaneça tolerante aos autoantígenos, e que será discutido em detalhes no Capítulo 15. Na medula, existem estruturas chamadas corpúsculos de Hassall que são compostas por espirais firmemente compactadas de células epiteliais que podem ser remanescentes de células em degeneração. O timo tem um rico suprimento vascular e vasos linfáticos eferentes que drenam para dentro dos linfonodos mediastínicos. O componente epitelial do timo deriva de invaginações que ocorrem na ectoderme do pescoço e do tórax em desenvolvimento do embrião, formando estruturas chamadas bolsas branquiais. Os precursores de linfócitos, macrófagos e DCs derivam da medula óssea.

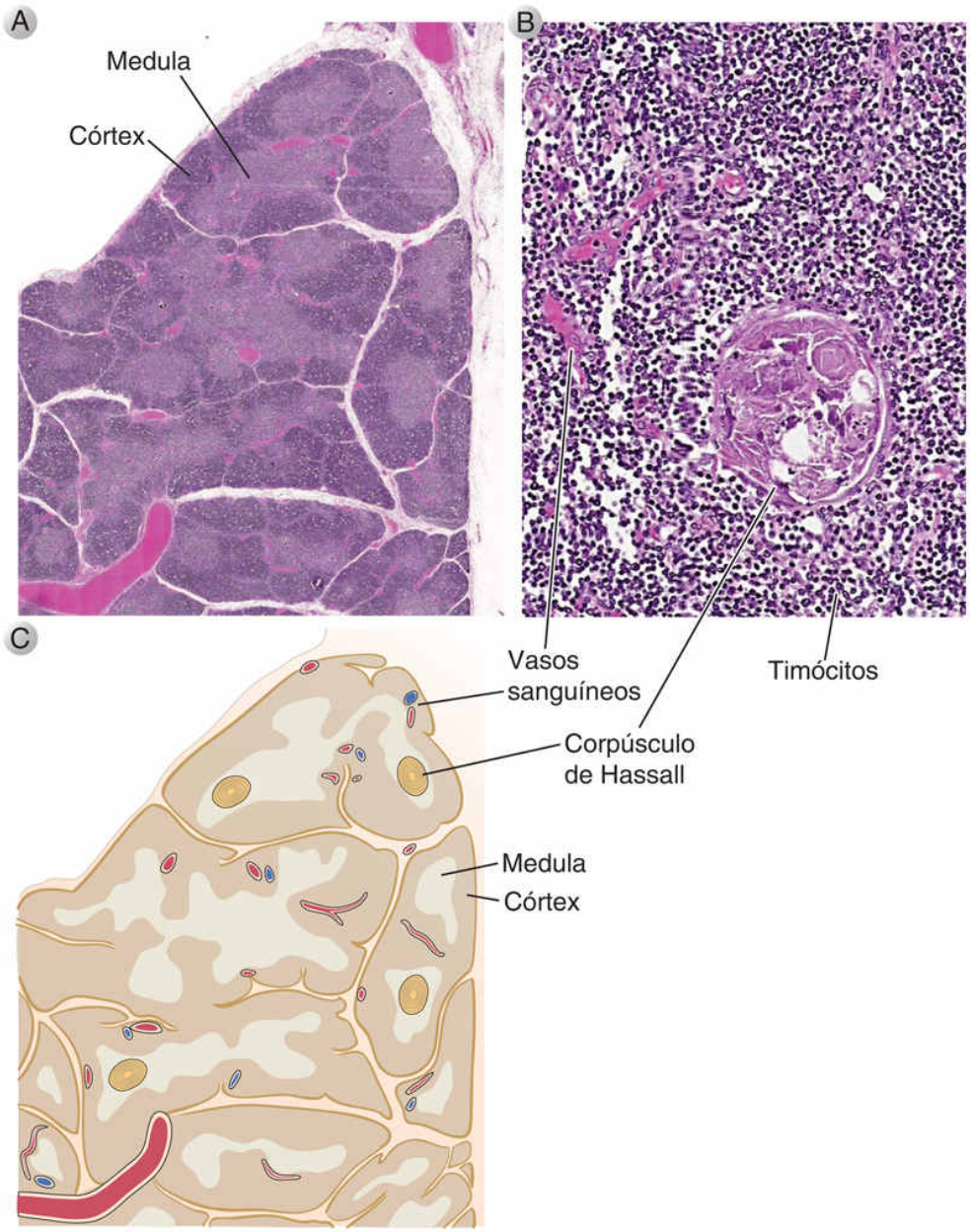


FIGURA 2.12 Morfologia do timo.
A, Micrografia de luz de baixa potência de um lobo do timo, mostrando o córtex e a medula. O córtex externo corado em tom mais escuro e a medula interna mais clara são evidentes. **B,** Micrografia de luz de alta potência da medula tímica. As numerosas células pequenas coradas de azul são células T em desenvolvimento chamadas *timócitos*, e a estrutura maior em rosa é o corpúsculo de Hassall, exclusivamente característico da medula tímica, mas cuja função é pouco conhecida. **C,** Diagrama esquemático do timo ilustrando uma porção de um lobo dividido em múltiplos lóbulos por trabéculas fibrosas.

Um distúrbio hereditário da imunidade da célula T causado pela falha de desenvolvimento do timo é chamado **síndrome de DiGeorge**. Esses pacientes sofrem de deficiência de célula T porque uma deleção cromossômica elimina os genes requeridos para o desenvolvimento do timo (Capítulo 21). Na linhagem de

camundongos *nude*, que tem sido amplamente usada na pesquisa em imunologia, uma mutação no gene codificador de um fator de transcrição causa uma falha de diferenciação de certos tipos de células epiteliais necessárias ao desenvolvimento normal do timo e dos folículos pilosos. Em consequência, esses camundongos não têm células T nem pelos. Os camundongos *nude* têm sido usados em estudos científicos, na análise das consequências da deficiência de célula T.

Os linfócitos no timo, também chamados **timócitos**, são células T em vários estágios de maturação. As células mais imaturas entram no timo, e sua maturação começa no córtex. Conforme amadurecem, os timócitos migram rumo à medula, por isso a medula contém principalmente células T maduras. Somente células T *naive* maduras saem do timo e entram no sangue e nos tecidos linfoides periféricos. Os detalhes da maturação dos linfócitos são descritos no Capítulo 8.

O Sistema Linfático

O sistema linfático consiste em vasos especializados, chamados linfáticos, que drenam líquido dos tecidos, e em linfonodos interespaçados ao longo dos vasos (Fig. 2.13). Os linfáticos são essenciais para a homeostasia de fluidos teciduais e para as respostas imunes. O líquido intersticial é formado constantemente em todos os tecidos vascularizados, pelo movimento de um filtrado de plasma para fora dos capilares, sendo que a velocidade da formação local pode aumentar drasticamente quando o tecido é lesado ou infectado. A pele, os epitélios e os órgãos parenquimatosos contêm numerosos capilares linfáticos que absorvem esse líquido a partir dos espaços existentes entre as células. Os capilares linfáticos são canais vasculares de fundo cego revestidos por células endoteliais sobrepostas sem as junções intercelulares comunicantes nem a membrana basal, que são típicas dos vasos sanguíneos. Os vasos linfáticos estão presos à matriz extracelular por fibras de elastina, as quais servem para puxá-los, abrindo-os quando há excesso de líquido acumulado e inchaço tecidual. Esses vasos permitem a livre captação do líquido intersticial, e o arranjo em sobreposição das células endoteliais e válvulas de sentido único junto aos seus lúmens previne o fluxo retrógrado do líquido. O líquido absorvido, chamado **linfa**, é bombeado para o interior de vasos linfáticos convergentes progressivamente maiores, por meio da contração das células musculares lisas perilinfáticas e por ação da pressão exercida pelo movimento dos tecidos musculoesqueléticos. Esses vasos se fundem aos aferentes linfáticos que drenam para dentro dos linfonodos, sendo que a linfa drena para fora dos linfonodos através dos linfáticos eferentes. Como os linfonodos estão conectados em série pelos linfáticos, um linfático eferente que sai de um linfonodo pode servir de vaso aferente para outro. O vaso linfático eferente na extremidade de uma cadeia de linfonodos se une a outros vasos linfáticos, eventualmente culminando em um vaso linfático amplo chamado ducto torácico. A linfa oriunda do ducto torácico é esvaziada na veia cava superior, devolvendo assim o líquido à corrente sanguínea. Os linfáticos do tronco direito superior, braço direito e lado direito da cabeça drenam para dentro do ducto linfático direito, que também drena para dentro da veia cava superior. Cerca de 2 litros de linfa normalmente são devolvidos à circulação a cada dia e a desorganização do sistema linfático por tumores ou algumas infecções parasíticas pode acarretar um grave inchaço tecidual.

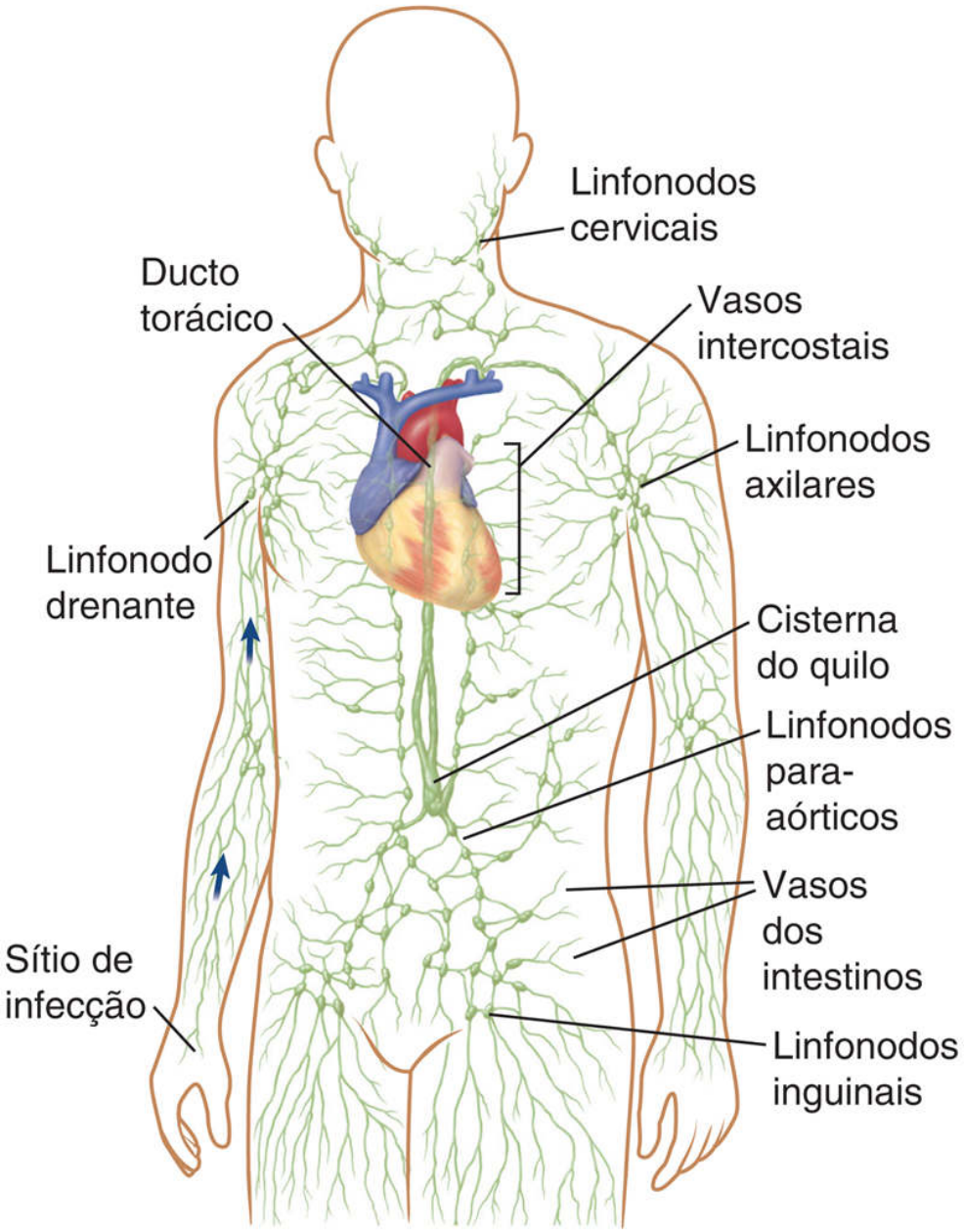


FIGURA 2.13 O sistema linfático.
São ilustrados os principais vasos linfáticos, que drenam para dentro da veia cava inferior (e veia cava superior, não mostrado), e as coleções de linfonodos. Os antígenos são capturados de um sítio de infecção e o linfonodo drenante ao qual esses antígenos são transportados e onde a resposta imune é iniciada.

Os vasos linfáticos coletam antígenos microbianos de suas portas de entrada e os distribuem aos linfonodos, onde esses antígenos podem estimular as respostas imunes adaptativas. Os microrganismos entram no corpo mais frequentemente através da pele e dos tratos gastrintestinal e respiratório. Todos esses tecidos são revestidos por barreiras epiteliais que contêm DCs, e todos são drenados por vasos linfáticos. As DCs capturam antígenos microbianos e entram nos vasos linfáticos através de hiatos

existentes na membrana basal. A migração das DCs para o linfonodo é guiada pelas quimiocinas produzidas no linfonodo, discutidas em detalhes no Capítulo 6. Outros microrganismos, bem como antígenos solúveis, podem entrar nos linfáticos independentemente das DCs. Além disso, mediadores inflamatórios solúveis, como as quimiocinas e outras citocinas, os quais são produzidos em sítios de infecção, entram nos linfáticos e ativam o endotélio linfático para promover adicionalmente a migração de DCs para dentro do vaso. Assim, os linfonodos localizados ao longo dos vasos linfáticos atuam como filtros que amostram a linfa para antígenos solúveis e DC-associados. Os antígenos capturados podem então ser "vistos" pelas células do sistema imune adaptativo. Esse processo é descrito no Capítulo 6.

Linfonodos

Os linfonodos são órgãos linfoides secundários, vascularizados e encapsulados, que exibem características anatômicas favoráveis à iniciação de respostas imunes adaptativas a antígenos transportados dos tecidos pelos linfáticos (Fig. 2.14). Os linfonodos estão situados ao longo dos canais linfáticos, no corpo inteiro, e assim têm acesso aos antígenos encontrados nos epitélios e originários da maioria dos tecidos, os quais são drenados pelos linfáticos. Existem cerca de 500 linfonodos no corpo humano. Um linfonodo é circundado por uma cápsula fibrosa, abaixo da qual está um sistema sinusal revestido por células reticulares, cruzado por fibrilas de colágeno e outras proteínas da matriz extracelular, repleto de linfócitos, macrófagos, DCs e outros tipos celulares. Os linfáticos aferentes esvaziam dentro do seio subcapsular (marginal), e a linfa pode drenar desse local diretamente para dentro do seio medular conectado e, em seguida, para fora do linfonodo via linfáticos eferentes. Os macrófagos no seio subcapsular proveem uma importante função de remover por fagocitose os organismos infecciosos, os quais podem ser reconhecidos pelos macrófagos através de uma ampla variedade de receptores de superfície celular. Sob o assoalho interno do seio subcapsular, está o córtex rico em linfócitos. O córtex externo contém agregados de células chamados **folículos**, os quais são povoados principalmente por linfócitos B. O córtex ao redor dos folículos, chamado córtex parafolicular, paracórtex ou zona de célula T, está organizado em cordões com fibras e proteínas de matriz extracelular em abundância, e é povoado principalmente por linfócitos T e DCs.

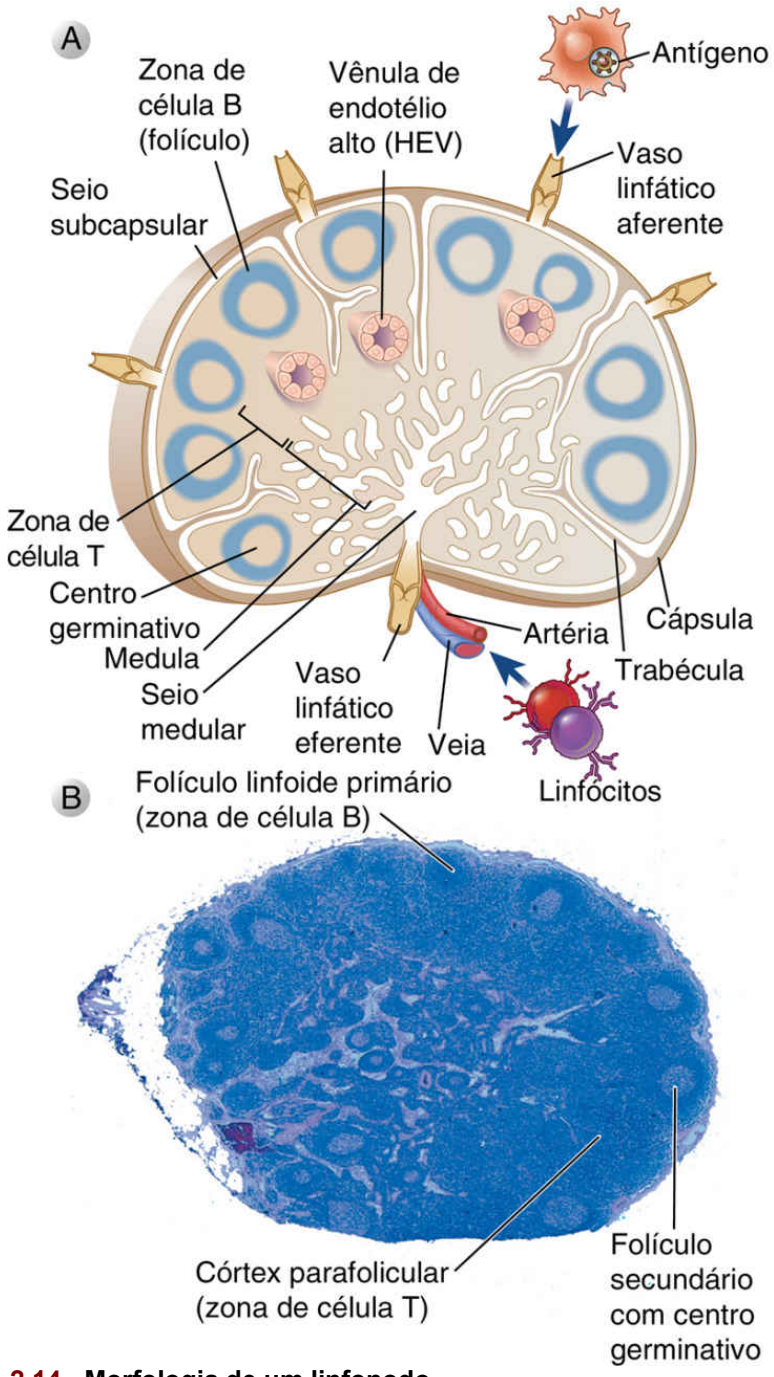


FIGURA 2.14 Morfologia de um linfonodo.
A, Diagrama esquemático de um linfonodo ilustrando as zonas ricas em células T e células B, bem como as rotas de entrada de linfócitos e antígeno (representado como capturado por uma DC). **B,** Micrografia de luz de um linfonodo ilustrando as zonas de células T e B. (Cortesia de Dr. James Gulizia, Department of Pathology, Brigham and Women' s Hospital, Boston, Massachusetts.)

Organização Anatômica dos Linfócitos B e T

Os linfócitos B e T são sequestrados em regiões distintas do córtex dos linfonodos (Fig. 2.15). As células B são encontradas principalmente nos folículos corticais. Os folículos se organizam em torno das células dendríticas foliculares (FDCs), que têm processos interdigitantes formando uma densa rede reticular. Alguns folículos contêm áreas centrais chamadas **centros germinativos**, que se coram fracamente com os corantes histológicos de uso comum. Os folículos sem centros germinativos, chamados folículos primários, contêm principalmente linfócitos B *naive* maduros. Os folículos com centros germinativos, chamados folículos secundários, contêm células B ativadas. Os centros germinativos se desenvolvem em resposta à estimulação antigênica e são locais de notável proliferação de células B, seleção de células B produtoras de anticorpos de alta afinidade, e geração de células B de memória e plasmócitos de vida longa. Cada centro germinativo consiste em uma zona escura densa e compactada contendo células B em proliferação chamadas centroblastos, e em uma zona clara contendo células chamadas centrócitos, que são células que pararam de proliferar e estão sendo selecionadas para sobreviver e se diferenciar ainda mais. A reação do centro germinativo durante as respostas imunes humorais é descrita no Capítulo 12.

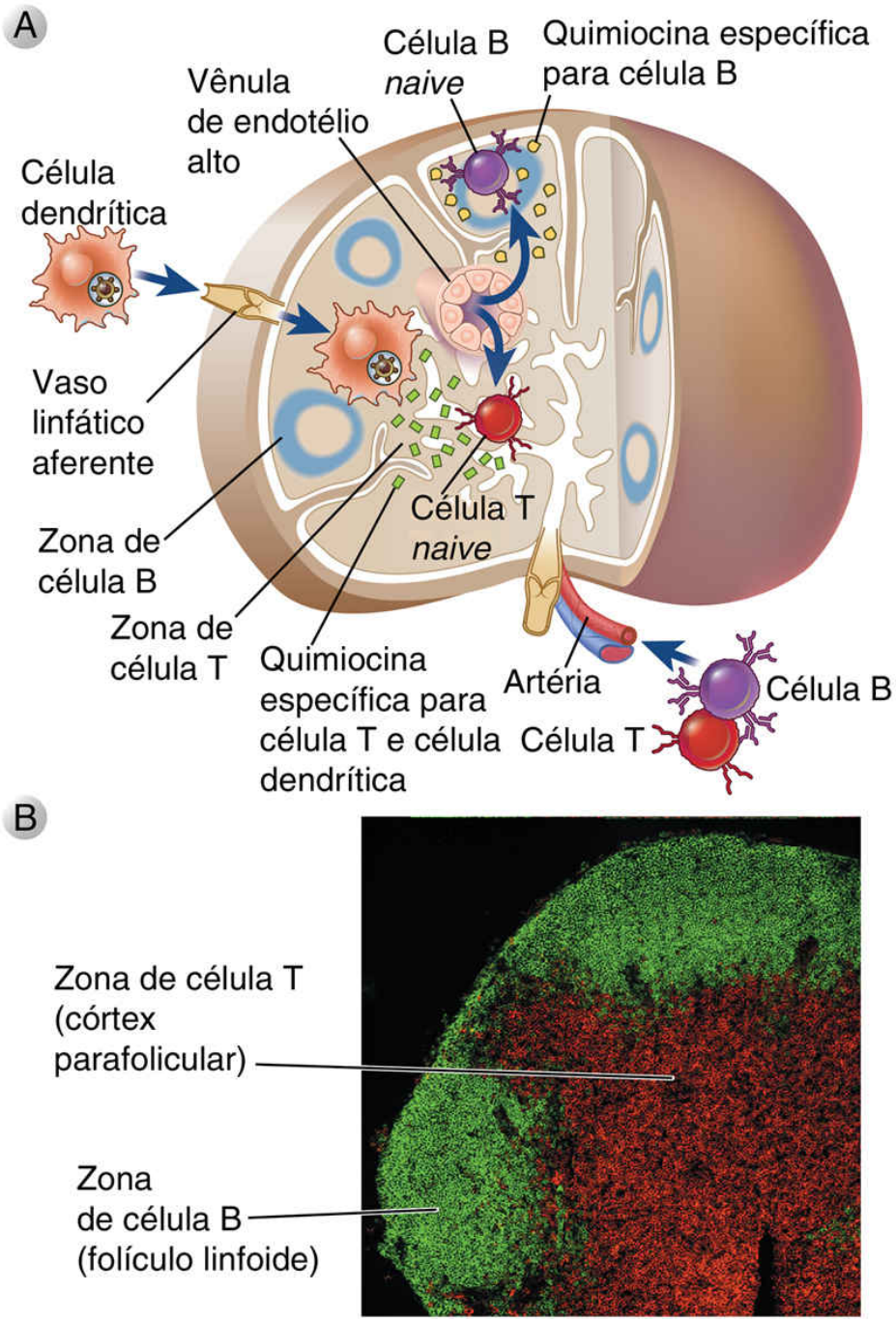


FIGURA 2.15 Segregação de células B e T em um linfonodo.
A, O diagrama esquemático ilustra a via pela qual as células T e linfócitos B *naive* migram para diferentes áreas de um linfonodo. Os linfócitos *naive* entram no linfonodo por uma artéria, saem da circulação movendo-se ao longo da parede da HEV e, então, as células B e T migram para diferentes zonas do linfonodo, atraídas pelas quimiocinas produzidas nessas áreas, e se ligam seletivamente a um desses tipos celulares. A migração das DCs também é mostrada, que capta antígenos dos sítios de entrada de antígeno, entra pelos vasos linfáticos e aferentes e migra para as áreas ricas em células T dos linfonodo. **B,** Neste corte de linfonodo, os linfócitos B, localizados nos folículos, estão corados de verde, as células T, no córtex parafolicular, aparecem em vermelho. O método usado para corar essas células é

chamado *imunofluorescência* (ver detalhes no Apêndice III). *(Cortesia de Drs. Kathryn Pape and Jennifer Walter, University of Minnesota School of Medicine, Minneapolis.)* A segregação anatômica das células T e B também é vista no baço (Fig. 2.17).

Os linfócitos T estão localizados principalmente abaixo e mais centralmente aos folículos, nos cordões paracorticais. Essas zonas ricas em células T contêm uma rede de fibroblastos especializados chamados **células reticulares fibroblásticas** (FRCs, do inglês, *fibroblastic reticular cells*), muitas das quais formam a camada externa de estruturas semelhantes a tubos chamadas condutos de FRC (Fig. 2.16). Como outros fibroblastos, as FRCs derivam da mesoderme, porém se distinguem pela expressão de uma proteína chamada podoplanina. Os condutos formados pelas FRCs têm diâmetros que variam de 0,2 a 3 μm e contêm arranjos organizados de moléculas de matriz extracelular, incluindo feixes paralelos de fibras colágenas inseridos em uma rede de microfibras de fibrilina, firmemente circundados por uma membrana basal produzida por um manguito de FRCs. Esses condutos servem para transportar alguns antígenos que entram nos linfonodos através dos linfáticos aferentes, seguindo para o interior da zona de células T para acessar as DCs apresentadoras de antígeno. Os condutos começam no seio subcapsular e se estendem para os vasos linfáticos sinusais medulares e vasos sanguíneos corticais, chamados **vênulas de endotélio alto** (HEVs, do inglês, *high endothelial venules*). As células T *naive* entram nas zonas de células T através das HEVs, como detalhado no Capítulo 3. As células T estão densamente concentradas ao redor dos condutos, no córtex do linfonodo. A maioria (~70%) das células T corticais são células T auxiliares $CD4^+$ entremeadas com algumas células $CD8^+$. Essas proporções podem mudar drasticamente no decorrer de uma infecção. Por exemplo, durante uma infecção viral, pode haver aumento acentuado do número de células T $CD8^+$. As DCs também se concentram no paracórtex dos linfonodos, e muitas estão em estreita associação com os condutos de FRC.

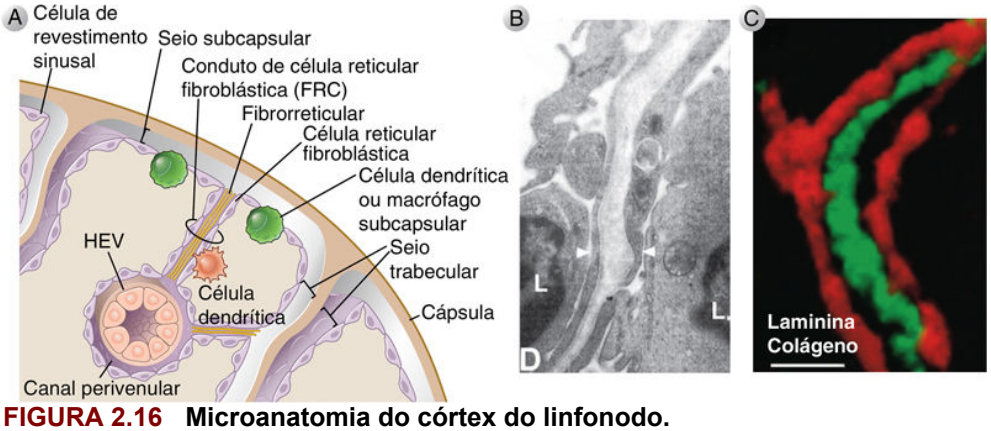


FIGURA 2.16 Microanatomia do córtex do linfonodo.
A, Esquema da microanatomia de um linfonodo representando a rota de drenagem de linfa a partir do seio subcapsular, através dos condutos de células fibrorreticulares, para o canal perivenular em torno da HEV. **B,** Micrografia eletrônica de transmissão de um conduto de FRC circundado por células reticulares fibroblásticas *(cabeças de seta)* e linfócitos adjacentes *(L)*. *(De Gretz JE, Norbury CC, Anderson AO, Proudfoot AEI, Shaw S: Lymph-borne chemokines and other low molecular weight molecules reach high endothelial venules via specialized conduits while a functional barrier limits access to the lymphocyte microenvironments in lymph node cortex,* The Journal of Experimental Medicine *192:1425–1439, 2000.)* **C,** Coloração imunofluorescente de um conduto de FRC formado pela proteína de membrana basal laminina *(vermelho)* e fibrilas de colágeno *(verde)*. *HEV,* vênula de endotélio alto. (De Sixt M, Nobuo K, Selg M, Samson T, Roos G, Reinhardt DP, Pabst R, Lutz M, Sorokin L: The conduit system transports soluble antigens from the afferent lymph to resident dendritic cells in the T cell area of the lymph node, *Immunity* 22:19–29, 2006. Copyright © 2005 by Elsevier Inc.)

A segregação anatômica dos linfócitos B e T em áreas distintas do linfonodo depende das citocinas que são secretadas pelas células estromais do linfonodo em cada área, e que dirigem a migração dos linfócitos (Fig. 2.15). As citocinas que determinam onde as células B e T residem no linfonodo são chamadas **quimiocinas** (citocinas quimiotáticas), e se ligam aos receptores de quimiocina existentes nos linfócitos. As quimiocinas constituem uma ampla família de citocinas de 8-10 kDa envolvidas nas funções de motilidade celular no desenvolvimento, manutenção da arquitetura tecidual e respostas imune e inflamatória. Discutiremos as propriedades das quimiocinas e seus receptores no Capítulo 3. As células T *naive* expressam um receptor chamado CCR7 que se liga às quimiocinas CCL19 e CCL21, produzidas pelas FRCs e outras células estromais nas zonas de células T do linfonodo. Essas quimiocinas promovem o movimento da célula T *naive* do sangue, através da parede das HEVs, e para dentro da zona de células T. As DCs ativadas por microrganismos também expressam CCR7 e as células endoteliais linfáticas expressam CCL21; é por isso que as DCs entram no linfonodo através dos linfáticos, e por isso migram para a mesma área do linfonodo que as células T *naive* (Capítulo 6). As células B *naive* expressam níveis baixos de CCR7 e níveis mais altos de outro receptor de quimiocina, o CXCR5, que reconhece a quimiocina CXCL13, produzida somente nos folículos pelas FDCs. Assim, as células B *naive* circulantes que entram nos linfonodos, também via HEVs, são atraídas para dentro dos folículos. As funções das quimiocinas na regulação da localização dos linfócitos nos órgãos linfoides e na formação desses órgãos foram estabelecidas por numerosos estudos realizados

com camundongos. Exemplificando, camundongos *knockout* para CXCR5 não têm folículos contendo células B nos linfonodos e no baço, enquanto os camundongos *knockout* para CCR7 não têm zonas de célula T.

O desenvolvimento de linfonodos, bem como de outros órgãos linfoides periféricos, depende das células tecido linfoide-indutoras e das ações coordenadas de várias citocinas, quimiocinas e fatores de transcrição. Durante a vida fetal, as células tecido linfoide-indutoras, que constituem uma subpopulação de ILCs discutida anteriormente, estimulam o desenvolvimento de linfonodos e outros órgãos linfoides secundários. Essa função é mediada por várias proteínas expressas pelas células indutoras, dentre as quais as mais completamente estudadas são as citocinas linfotoxina-α (LTα) e linfotoxina-β (LTβ). Camundongos *knockout* para qualquer uma dessas citocinas não desenvolvem linfonodos nem tecidos linfoides secundários no intestino. O desenvolvimento da polpa branca esplênica também é desorganizado nesses camundongos. A LTβ produzida pelas células indutoras estimula as células estromais em diferentes localizações em um órgão linfoide secundário em desenvolvimento a secretarem quimiocinas que ajudam a organizar a estrutura dos órgãos linfoides. As FDCs são ativadas pela LTβ a produzirem a quimiocina CXCL13, que serve para recrutar células B e organizar o folículo em desenvolvimento. As FRCs são ativadas e produzem CCL19 e CCL21, que recrutam células T e DCs, e formam a zona de células T.

A segregação anatômica das células B e T garante que cada população de linfócitos esteja em estreito contato com as APCs apropriadas (i. e., células B com FDCs, e células T com DCs). Além disso, graças a essa segregação precisa, as populações de linfócitos B e T são mantidas separadas até o momento em que deverão interagir de modo funcional. Conforme veremos nos Capítulos 9 e 12, após a estimulação pelos antígenos proteicos, as células B e T alteram a expressão dos receptores de quimiocina e começam a migrar na direção umas das outras em resposta aos sinais das quimiocinas e outros mediadores. As células T ativadas migram rumo aos folículos, para ajudar as células B, ou saem do linfonodo e entram na circulação. As células B ativadas migram para dentro dos centros germinativos e, após a diferenciação em plasmócitos, podem passar a residir na medula óssea.

Transporte Antigênico Via Linfonodos

As substâncias transportadas pela linfa que entram no seio subcapsular do linfonodo são separadas por tamanho e distribuídas às DCs, macrófagos e FDCs, para iniciar as respostas das células T e B. O assoalho do seio subcapsular é construído de forma a permitir que as células presentes no seio entrem em contato ou migrem para o córtex subjacente, mas de modo a impedir a livre passagem de moléculas solúveis presentes na linfa para o córtex. Microrganismos e antígenos de alto peso molecular são captados pelos macrófagos sinusais e apresentados aos linfócitos B corticais logo abaixo do seio. Essa é a primeira etapa nas respostas de anticorpo a esses antígenos. Os antígenos solúveis de baixo peso molecular são transportados para fora do seio através de condutos de FRC, e passados às DCs corticais residentes localizadas nas adjacências dos condutos. As DCs residentes estendem seus processos por entre as células que revestem os condutos e para dentro do lúmen, e usam esses processos para capturar e ingerir os antígenos solúveis que entraram nos condutos. Essa via de distribuição de antígenos

pode ter papel nas respostas imunes de célula T iniciais a certos antígenos microbianos, porém as respostas mais amplas e sustentadas requerem distribuição de antígenos ao linfonodo pelas DCs, conforme discutido no Capítulo 6.

Baço

O baço é um órgão altamente vascularizado, cujas principais funções são remover da circulação as células sanguíneas envelhecidas e danificadas, bem como as partículas (como imunocomplexos e microrganismos opsonizados), e iniciar respostas imunes adaptativas a antígenos transportados pelo sangue. O baço pesa aproximadamente 150 g em adultos e está localizado no quadrante superior esquerdo do abdome. O parênquima esplênico é dividido em polpa vermelha, constituída principalmente por sinusoides vasculares cheios de sangue, e polpa branca rica em linfócitos. O sangue entra no baço por uma única artéria esplênica, que atravessa a cápsula no hilo e se divide em ramos progressivamente menores que permanecem circundados por trabéculas fibrosas de proteção e suporte (Fig. 2.17). Alguns ramos arteriolares da artéria esplênica terminam em extensivos sinusoides vasculares contendo alto número de eritrócitos, e são revestidos por macrófagos e outras células. Os sinusoides terminam em vênulas que drenam no interior da veia esplênica, a qual transporta sangue para fora do baço e para dentro da circulação porta. Os macrófagos da polpa vermelha atuam como um importante filtro do sangue, removendo microrganismos, células danificadas e células/microrganismos cobertos com anticorpos (opsonizados). Os indivíduos sem baço são suscetíveis a infecções disseminadas por bactérias encapsuladas, como os pneumococos e meningococos. Isso pode ser devido principalmente ao fato de esses microrganismos normalmente serem depurados por opsonização e fagocitose, e essa função ser defeituosa na ausência do baço.

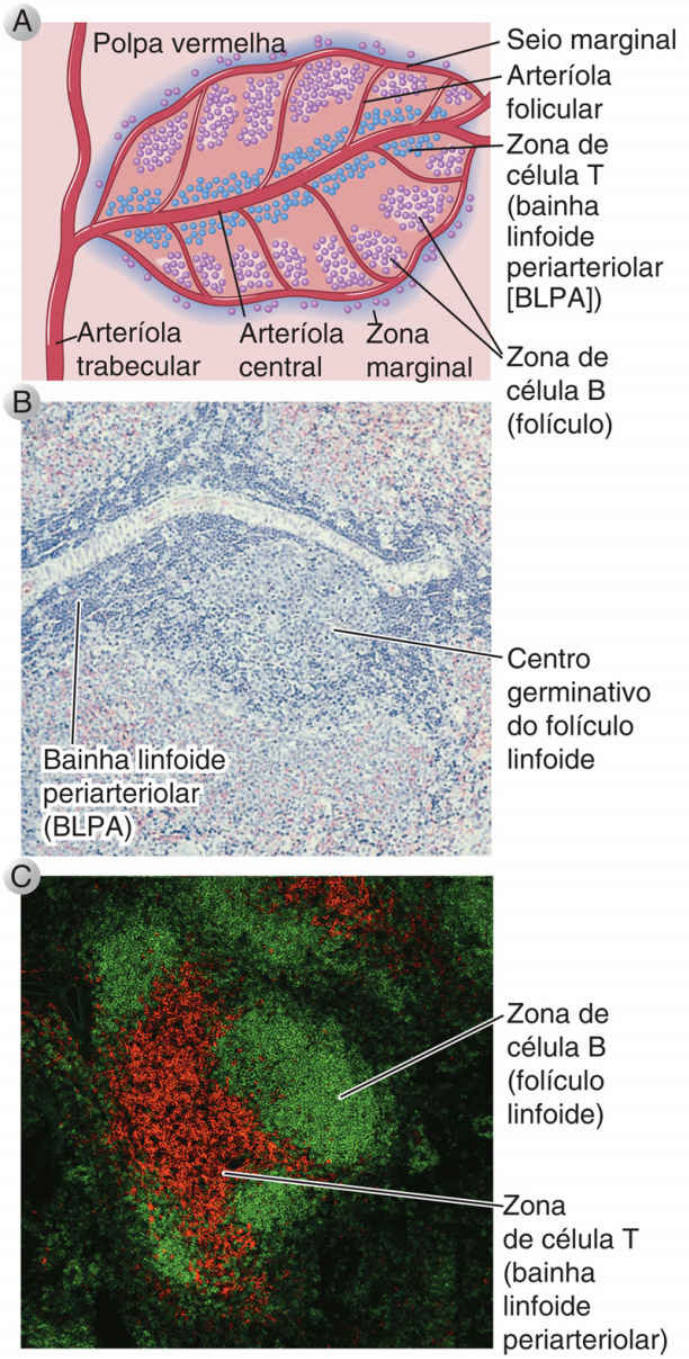


FIGURA 2.17 Morfologia do baço.
A, Diagrama esquemático do baço, ilustrando as zonas de células T e B, que constituem a polpa branca. **B,** Fotomicrografia de um corte de baço humano mostrando uma artéria trabecular com bainha linfoide periarteriolar adjacente e um folículo linfoide com centro germinativo. Circundando essas áreas, está a polpa vermelha, rica em sinusoides vasculares. **C,** Demonstração imuno-histoquímica das zonas de células T e B no baço, mostradas em corte transversal da região em torno de uma arteríola. As células T na bainha linfoide periarteriolar estão coradas de vermelho, enquanto as células B no folículo estão coradas de verde. (Cortesia de Drs. Kathryn Pape and Jennifer Walter, University of Minnesota School of Medicine, Minneapolis.)

A polpa branca contém as células mediadoras das respostas imunes adaptativas a antígenos transportados pelo sangue. Na polpa branca, há muitas coleções de linfócitos densamente concentrados, aparecendo como nódulos brancos contra um fundo de sinusoides vasculares. A polpa branca está organizada ao redor de artérias centrais que consistem em ramos da artéria esplênica distintos dos ramos que formam os sinusoides vasculares. Vários ramos menores de cada artéria central atravessam a área rica em linfócitos e drenam no interior de um seio marginal. Uma região de células especializadas circundando o seio marginal, chamada **zona marginal**, forma a fronteira entre a polpa vermelha e a polpa branca. A arquitetura da polpa branca é análoga à organização dos linfonodos, com zonas segregadas de células T e B. No baço murino, as artérias centrais estão circundadas por manguitos de linfócitos, a maioria dos quais são células T. Devido à sua localização anatômica, essas zonas de células T são chamadas pelos morfologistas de **bainhas linfoides periarteriolares**. Folículos ricos em células B ocupam o espaço entre o seio marginal e a bainha periarteriolar. Como nos linfonodos, as áreas de células T no baço contêm uma rede de condutos complexos revestidos com células do tipo FRC. A zona marginal fora do seio marginal é uma região distinta povoada por células B e macrófagos especializados. As células B na zona marginal, conhecidas como células B da zona marginal, são funcionalmente distintas das células B foliculares e têm um repertório limitado de especificidades antigênicas. A arquitetura da polpa branca é mais complexa nos seres humanos do que no camundongo, contendo zonas marginais interna e externa, e uma zona perifolicular. Os antígeno presentes no sangue chegam ao interior do seio marginal através das DCs circulantes, ou são amostrados por macrófagos presentes na zona marginal.

Os arranjos anatômicos das APCs, células B e células T na polpa branca esplênica promovem as interações requeridas para o desenvolvimento eficiente das respostas imunes humorais, conforme discutiremos no Capítulo 12. A segregação dos linfócitos T nas bainhas linfoides periarteriolares e das células B nos folículos e zonas marginais depende da produção de diferentes citocinas e quimiocinas pelas células estromais nessas áreas distintas, de modo análogo ao que ocorre nos linfonodos. Assim como nos linfonodos, a quimiocina CXCL13 e seu receptor CXCR5 são requeridos para a migração da célula B para o interior dos folículos, enquanto CCL19 e CCL21, bem como seu receptor CCR7, são requeridos para a migração da célula T *naive* para o interior da bainha periarteriolar. A produção dessas quimiocinas por células estromais não linfoides é estimulada pela citocina linfotoxina.

Sistemas Imunes Cutâneo e de Mucosa

Todas as principais barreiras epiteliais do corpo, incluindo a pele, mucosa gastrintestinal e mucosa bronquial, têm seu próprio sistema de linfonodos, estruturas linfoides não encapsuladas e células imunes difusamente distribuídas, que atuam de formas coordenadas para fornecer respostas imunes especializadas contra os patógenos que transpõem essas barreiras. O sistema imune associado à pele evoluiu para responder a uma ampla variedade de microrganismos ambientais. Os componentes dos sistemas imunes associados às mucosas gastrintestinal e bronquial são chamados tecido linfoide associado à mucosa (MALT, do inglês, *mucosa-associated lymphoid tissue*) e estão envolvidos nas respostas imunes a antígenos e microrganismos ingeridos e inalados. A pele e o MALT contêm uma ampla proporção dessas células dos

sistemas imunes inato e adaptativo. Uma característica importante desses tecidos epiteliais é serem densamente povoados por microrganismos comensais, alguns dos quais essenciais à fisiologia normal. Nesses tecidos, o sistema imune evoluiu para não eliminar os comensais. Discutiremos as características especiais desses sistemas imunes de barreira epitelial no Capítulo 14.

Resumo

- A organização anatômica das células e dos tecidos do sistema imune tem importância decisiva para a geração de respostas imunes inatas e adaptativas efetivas. Essa organização permite a rápida distribuição das células imunes inatas, incluindo neutrófilos e monócitos, aos sítios de infecção, e possibilita que um pequeno número de linfócitos específicos para um antígeno qualquer fiquem localizados e respondam efetivamente a esse antígeno, independentemente de onde o antígeno é introduzido no corpo.
- As células que exercem a maioria das funções efetoras da imunidade inata e adaptativa são fagócitos (incluindo neutrófilos e macrófagos), mastócitos, basófilos, eosinófilos, DCs e linfócitos.
- Muitas moléculas de superfície são expressas de modo diferencial em tipos distintos e subpopulações de células imunes, as quais são nomeadas de acordo com a nomenclatura CD.
- Os neutrófilos, leucócitos mais abundantes no sangue, contendo núcleo segmentado multilobulado e grânulos lisossomais citoplasmáticos abundantes, são rapidamente recrutados aos sítios de infecção e lesão tecidual, onde exercem funções fagocíticas.
- Os macrófagos incluem as células sentinela residentes nos tecidos, bem como as células derivadas de monócitos circulantes recrutados em resposta à infecção. Todos os macrófagos são células fagocíticas que ingerem e matam microrganismos e células mortas do hospedeiro, e secretam citocinas e quimiocinas promotoras de recrutamento de leucócitos a partir do sangue, além de iniciarem o reparo dos tecidos danificados.
- As células dendríticas são células com múltiplos processos citoplasmáticos estendidos, presentes na maioria dos tecidos do corpo, que atuam como células sentinela inatas e também como APCs, exclusivamente capazes de ativar linfócitos T *naive*.
- Os linfócitos B e T expressam receptores antigênicos altamente diversificados e específicos, e são as células responsáveis pela especificidade e memória das respostas imunes adaptativas.
- As células linfoides inatas (ILCs) são células produtoras de citocina do sistema imune inato, com morfologia semelhante a do linfócito. Exercem funções similares as das células T efetoras $CD4^+$ e $CD8^+$. As ILCs, as quais incluem células NK, não expressam receptores antigênicos altamente diversos e clonalmente distribuídos.
- Ambos os linfócitos, B e T, surgem a partir de um precursor comum na medula óssea. O desenvolvimento da célula B se dá na medula óssea, enquanto os precursores da célula T migram e amadurecem no timo. Após a maturação, as células B e T deixam a medula óssea ou o timo, entram na circulação e povoam os órgãos linfoides periféricos.
- As células B e T *naive* são linfócitos maduros ainda não previamente estimulados por antígeno. Quando encontram o antígeno, essas células proliferam e se diferenciam em linfócitos efetores que atuam nas respostas

imunes protetoras. Os linfócitos B efetores são plasmócitos secretores de anticorpos. As células T efetoras incluem as células T auxiliares $CD4^+$ secretoras de citocina e os CTLs $CD8^+$.

- Uma parte da progênie dos linfócitos B e T antígeno-ativados se diferencia em células de memória que sobrevivem por longos períodos, em estado quiescente. Essas células de memória são responsáveis pelas respostas rápidas e intensificadas a exposições subsequentes ao antígeno.
- Os órgãos do sistema imune podem ser divididos em órgãos linfoides geradores, ou primários (medula óssea e timo), onde os linfócitos amadurecem; e órgãos periféricos, ou secundários (linfonodos, baço e partes do sistema imune de mucosa), onde os linfócitos T *naive* são ativados pelos antígenos.
- A medula óssea contém as células-tronco para todas as células sanguíneas, incluindo os linfócitos, e é o sítio de maturação de todos esses tipos celulares, com exceção das células T, que amadurecem no timo.
- O líquido extracelular (linfa) é constantemente drenado dos tecidos através dos linfáticos, para dentro dos linfonodos e, eventualmente, para o sangue. Os antígenos microbianos são transportados na forma solúvel e junto às DCs na linfa, para os linfonodos, onde são reconhecidos pelos linfócitos.
- Os linfonodos são órgãos linfoides secundários encapsulados localizados ao longo de todo o corpo, onde as células B e T *naive* respondem aos antígenos coletados pela linfa a partir dos tecidos periféricos. O baço é um órgão encapsulado contido na cavidade abdominal, onde células sanguíneas senescentes ou opsonizadas são removidas da circulação, e os linfócitos respondem aos antígenos transportados pelo sangue.
- Os linfonodos e a polpa branca do baço são organizados em zonas de células B (os folículos) e zonas de células T. As áreas de célula T também são sítios de residência de DCs maduras, as quais são APCs especializadas na ativação de células T *naive*. As FDCs residem nas áreas de célula B e atuam ativando as células B durante as respostas imunes humorais a antígenos proteicos. O desenvolvimento dos tecidos linfoides secundários depende das citocinas e das células indutoras de tecido linfoide.

Referências Sugeridas

Células do Sistema Imune

Collin M, McGovern N, Haniffa M. Human dendritic cell subsets. *Immunology*. 2013;140:22–30.

Davies LC, Jenkins SJ, Allen JE, Taylor PR. Tissue-resident macrophages. *Nat Immunol*. 2013;14:986–995.

Fan X, Rudensky AY. Hallmarks of tissue-resident lymphocytes. *Cell*. 2016;164:1198–1211.

Farber DL, Yudanin NA, Restifo NP. Human memory T cells: generation, compartmentalization and homeostasis. *Nat Rev Immunol*. 2014;14:24–35.

Geissmann F, Manz MG, Jung S, et al. Development of monocytes, macrophages, and dendritic cells. *Science*. 2010;327:656–661.

Merad M, Sathe P, Helft J, et al. The dendritic cell lineage: ontogeny and function of dendritic cells and their subsets in the steady state and the inflamed setting. *Annu Rev Immunol*. 2013;31:563–604.

Mildner A, Jung S. Development and function of dendritic cell subsets. *Immunity*. 2014;40:642–656.

Satpathy AT, Wu X, Albring JC, Murphy KM. Re(de)fining the dendritic cell lineage. *Nat Immunol*. 2012;13:1145–1154.

Shortman K, Sathe P, Vremec D, et al. Plasmacytoid dendritic cell development. *Adv Immunol*. 2013;120:105–126.

Surh CD, Sprent J. Homeostasis of naive and memory T cells. *Immunity*. 2008;29:848–862.

Swiecki M, Colonna M. The multifaceted biology of plasmacytoid dendritic cells. *Nat Rev Immunol*. 2015;15:471–485.

Ziegler-Heitbrock L. Blood monocytes and their subsets: established features and open questions. *Front Immunol*. 2015;6:423.

Tecidos do Sistema Imune

Bronte V, Pittet MJ. The spleen in local and systemic regulation of immunity. *Immunity*. 2013;39:806–818.

Lane P, Kim MY, Withers D, et al. Lymphoid tissue inducer cells in adaptive CD4 T cell dependent responses. *Semin Immunol*. 2008;20:159–163.

Mebius RE, Kraal G. Structure and function of the spleen. *Nat Rev Immunol*. 2005;5:606–616.

Mueller SN, Germain RN. Stromal cell contributions to the homeostasis and functionality of the immune system. *Nat Rev Immunol*. 2009;9:618–629.

Qi H, Kastenmuller W, Germain RN. Spatiotemporal basis of innate and adaptive immunity in secondary lymphoid tissue. *Annu Rev Cell Dev Biol*. 2014;30:141–167.

Ruddle NH, Akirav EM. Secondary lymphoid organs: responding to genetic and environmental cues in ontogeny and the immune response. *J Immunol*. 2009;183:2205–2212.

CAPÍTULO 3

Circulação de Leucócitos e Migração para os Tecidos

VISÃO GERAL DA MIGRAÇÃO DE LEUCÓCITOS

MOLÉCULAS DE ADESÃO NOS LEUCÓCITOS E NAS CÉLULAS ENDOTELIAIS ENVOLVIDAS NO RECRUTAMENTO DE LEUCÓCITOS

- Selectinas e Ligantes de Selectinas
- Integrinas e Ligantes de Integrinas

QUIMIOCINAS E RECEPTORES DE QUIMIOCINAS

- Estrutura, Produção e Receptores de Quimiocinas
- Ações Biológicas das Quimiocinas

INTERAÇÕES LEUCÓCITO-ENDOTÉLIO E RECRUTAMENTO DE LEUCÓCITOS PARA OS TECIDOS

MIGRAÇÃO DE NEUTRÓFILOS E MONÓCITOS PARA SÍTIOS DE INFECÇÃO OU DE LESÃO TECIDUAL

MIGRAÇÃO E RECIRCULAÇÃO DE LINFÓCITOS T

- Recirculação de Linfócitos *Naive* entre o Sangue e os Órgãos Linfoides Secundários
- Recirculação de Células T através de Outros Tecidos Linfoides
- Migração dos Linfócitos T Efetores para os Sítios de Infecção
- Migração de Células T de Memória

MIGRAÇÃO DE LINFÓCITOS B

RESUMO

Uma propriedade única do sistema imune que o distingue de todos os outros sistemas teciduais no corpo é o movimento constante e altamente regulado de seus principais componentes celulares através do sangue para os tecidos e, frequentemente, de volta para o sangue. Esse movimento tem três funções principais (Fig. 3.1):

- Distribuição de leucócitos da linhagem mieloide (principalmente neutrófilos e monócitos) a partir da circulação para os tecidos, sítios de infecção ou lesão, onde as células realizam suas funções protetoras eliminando patógenos infecciosos, removendo tecidos mortos e reparando o dano.
- Distribuição de linfócitos a partir dos seus locais de maturação (medula óssea ou timo) para órgãos linfoides periféricos (secundários), onde as células reconhecem antígenos, proliferam e se diferenciam em linfócitos efetores e de memória.
- Distribuição de linfócitos efetores dos órgãos linfoides secundários, onde são produzidos, para sítios de infecção em qualquer tecido, onde desempenham suas funções protetoras.

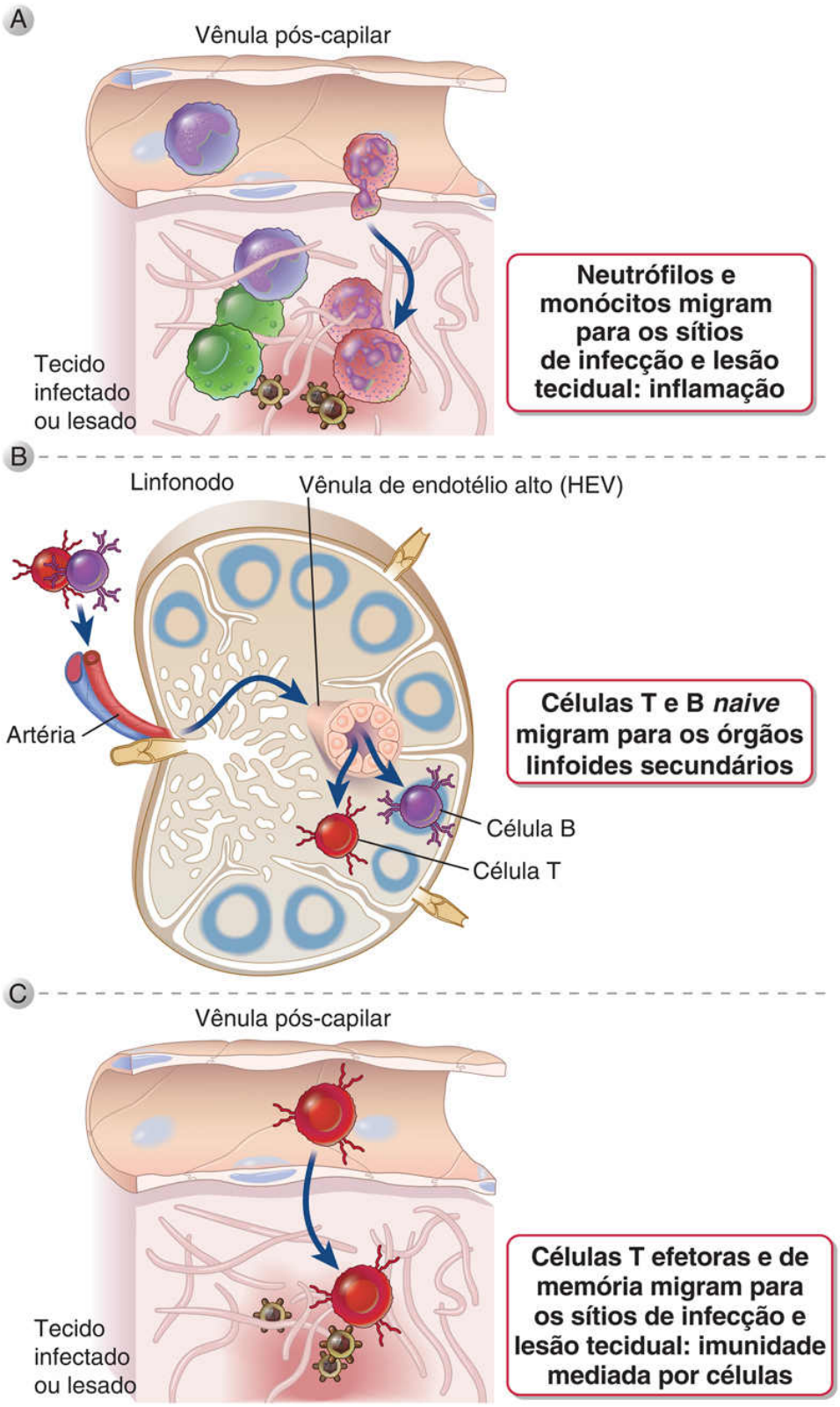


FIGURA 3.1 As principais funções realizadas pela migração de leucócitos do sangue para os tecidos.

A, Os neutrófilos e monócitos produzidos na medula óssea circulam

no sangue e são recrutados para os sítios teciduais de infecção ou lesão, onde eliminam os patógenos infecciosos, removem os tecidos mortos e reparam o dano tecidual. **B**, Os linfócitos *naive* que surgem na medula óssea ou no timo migram para órgãos linfoides secundários, tais como linfonodo (ou baço, não mostrado), onde se tornam ativados pelos antígenos e se diferenciam em linfócitos efetores. **C**, Os linfócitos efetores que se desenvolvem nos órgãos linfoides secundários migram para os sítios teciduais de infecção, onde participam da defesa microbiana. Os linfócitos de memória (não mostrados) migram entre sangue, órgãos linfoides secundários e tecidos normais ou infectados.

Devido à capacidade de disseminação das células imunes por todo o corpo, uma resposta imune pode ser iniciada em um local, mas pode estar ativa em locais distantes. Em outras palavras, a imunidade é tanto local quanto sistêmica.

A migração de um leucócito para fora do sangue e em direção a um tecido em particular, ou para um sítio de infecção ou lesão, é frequentemente denominada ***homing*** leucocitário, e o processo geral de movimento do leucócito do sangue para os tecidos é chamado **migração** ou **recrutamento**. A habilidade dos linfócitos de chegarem repetidamente aos órgãos linfoides secundários, residir transientemente nesses locais e retornarem ao sangue é denominada **recirculação**. O recrutamento de leucócitos e proteínas plasmáticas do sangue para os sítios de infecção e de lesão tecidual é a parte principal do processo chamado **inflamação**. A inflamação é desencadeada pelo reconhecimento de microrganismos e células lesadas ou mortas durante as respostas imunes inatas, sendo refinada e prolongada durante as respostas imunes adaptativas. A resposta inflamatória direciona as células e moléculas de defesa do hospedeiro para os locais onde os agentes agressores necessitam ser combatidos. O mesmo processo é responsável por causar dano tecidual e constitui a base de muitas doenças importantes. Retornaremos à inflamação no contexto da imunidade inata no Capítulo 4 e na discussão sobre doenças inflamatórias no Capítulo 19.

VisãO Geral da MigraçãO de LeucóCitos

O *homing* e o recrutamento de leucócitos para os diferentes tecidos são controlados por alguns princípios gerais.

- Os linfócitos *naive* migram de maneira contínua principalmente para os tecidos linfoides secundários, ao passo que os linfócitos previamente ativados pelo antígeno (p. ex.: linfócitos efetores), assim como os leucócitos mieloides, chegam preferencialmente aos tecidos onde há infecção ou lesão tecidual. Linfócitos de memória migram para os órgãos linfoides, tecidos de mucosas, pele e outros tecidos.
- O *homing* e o recrutamento de leucócitos requer a adesão do leucócito ao revestimento endotelial das vênulas pós--capilares, um processo que envolve moléculas presentes na superfície tanto dos leucócitos (moléculas de adesão e receptores de quimiocinas) quanto das células endoteliais (moléculas de adesão e quimiocinas).
- As células endoteliais nos sítios de infecção e nos tecidos danificados são ativadas pelas citocinas secretadas por células sentinelas teciduais (incluindo as células dendríticas [DCs], macrófagos e mastócitos), resultando em expressão aumentada das moléculas de adesão e quimiocinas. Como consequência ocorre um aumento na adesividade entre as células endoteliais e os leucócitos mieloides e linfócitos circulantes previamente ativados.
- Pelo fato de os microrganismos e tecidos necróticos induzirem a expressão de moléculas que medeiam a adesão leucócito-endotélio, os leucócitos efetores migram através do endotélio, principalmente, quando e onde são necessários.

O processo básico envolvido na migração dos leucócitos para os tecidos é o mesmo para os diferentes tipos de leucócitos (neutrófilos, monócitos, linfócitos *naive* e efetores) que chegam aos distintos tipos de tecidos (órgãos linfoides secundários, tecidos infectados), embora as quimiocinas específicas e as moléculas de adesão variem de tal forma que isso resulta em diferentes sítios de migração para diferentes tipos celulares. Antes de descrever o processo de migração, discutiremos as propriedades e funções

das moléculas de adesão e das quimiocinas que estão envolvidas no recrutamento de leucócitos.

Moléculas de Adesão nos Leucócitos e nas Células Endoteliais Envolvidas no Recrutamento de Leucócitos

A adesão de leucócitos circulantes às células endoteliais vasculares é mediada por duas classes de moléculas, denominadas selectinas e integrinas, e seus ligantes. A expressão dessas moléculas varia entre os diferentes tipos de leucócitos e em vasos sanguíneos de diferentes localizações.

Selectinas e Ligantes de Selectinas

As selectinas são moléculas de adesão ligantes de carboidratos da membrana plasmática que medeiam um passo inicial de adesão de baixa afinidade dos leucócitos circulantes às células endoteliais que recobrem as vênulas pós-capilares (Tabela 3.1). Os domínios extracelulares das selectinas são similares às lectinas tipo C, assim chamadas porque ligam estruturas de carboidratos (o que caracteriza a definição das lectinas) de maneira cálcio-dependente. As selectinas e seus ligantes são expressos nos leucócitos e células endoteliais.

Tabela 3.1

Principais Moléculas de Adesão Leucócito-Endotélio

Família	Molécula	Distribuição	Ligante (Molécula, Tipo Celular)
Selectina	P-Selectina (CD62P)	Endotélio ativado por histamina ou trombina	Sialil Lewis X em PSGL-1 e outras glicoproteínas; neutrófilos, monócitos, células T (efetora, de memória)
	E-Selectina (CD62E)	Endotélio ativado por citocinas (TNF, IL-1)	Sialil Lewis X (p. ex., CLA-1) em glicoproteínas; neutrófilos, monócitos, células T (efetora, de memória)
	L-Selectina (CD62L)	Neutrófilos, monócitos, células T (*naive* e de memória central), células B (*naive*)	Sialil Lewis X/PNAd em GlyCAM-1, CD34, MadCAM-1, outros; endotélio (HEV)
Integrina	LFA-1 (CD11aCD18)	Neutrófilos, monócitos, células T (*naive*, efetora e de memória), células B (*naive*)	ICAM-1 (CD54), ICAM-2 (CD102); endotélio (regulado positivamente quando ativado por citocina)
	Mac-1 (CD11bCD18)	Neutrófilos, monócitos e células dendríticas	ICAM-1 (CD54), ICAM-2 (CD102); endotélio (regulado positivamente quando ativado por citocina)
	VLA-4 (CD49aCD29)	Monócitos, células T (*naive*, efetora e de memória)	VCAM-1 (CD106); endotélio (regulado positivamente quando ativado por citocina)
	$\alpha_4\beta_7$ (CD49dCD29)	Monócitos e células T (em *homing* para o intestino, *naive*, efetoras, de memória), células B (em *homing* para o intestino)	VCAM-1 (CD106), MadCAM-1; endotélio intestinal e tecidos linfoides associados ao intestino

CLA-1, antígeno 1 de linfócito cutâneo; *GlyCAM-1*, molécula 1 de adesão de célula com glicana; *HEV*, vênula de endotélio alto; *ICAM-1*, molécula 1 de adesão intercelular; *IL-1*, interleucina-1; *LFA-1*, antígeno 1 associado à função de leucócito; *MadCAM-1*, molécula 1 de adesão celular de adressina de mucosa; *PNAd*, adressina de nodo periférico; *PSGL-1*, ligante 1 da glicoproteína P-selectina; *TNF*, fator de necrose tumoral; *VCAM-1*, molécula 1 de adesão de célula vascular; *VLA-4*, antígeno 4 muito tardio.

As células endoteliais expressam dois tipos de selectinas, denominadas **P-selectina** (CD62P) e **E-selectina** (CD62E). A P-selectina, assim chamada porque foi primeiro encontrada em plaquetas, é armazenada nos grânulos citoplasmáticos das células endoteliais, sendo rapidamente redistribuída para a superfície luminal em resposta à histamina dos mastócitos e da trombina gerada durante a coagulação sanguínea. A E-selectina é sintetizada e expressa na superfície da célula endotelial, dentro de 1 a 2 horas, em resposta às citocinas interleucina-1 (IL-1) e fator de necrose tumoral (TNF), as quais são produzidas por células sentinelas teciduais (DCs e macrófagos) em resposta à infecção. Produtos microbianos, tais como lipopolissacarídio (LPS), também estimulam a expressão da E-selectina nas células endoteliais. Descreveremos a IL-1, o TNF e o LPS em nossa discussão sobre inflamação no Capítulo 4.

Os ligantes presentes nos leucócitos que se ligam a E-selectina e P-selectina das células endoteliais são carboidratos complexos sialilados e relacionados à família das moléculas do grupo sanguíneo Lewis X ou Lewis A. Essas estruturas químicas estão presentes em várias glicoproteínas da superfície de granulócitos, monócitos e algumas células T efetoras previamente ativadas e de memória. A estrutura mais bem definida é a do tetrassacarídeo sialil Lewis X. Uma glicoproteína de membrana de leucócito denominada glicoproteína ligante de P-selectina 1 (PSGL-1, do inglês, *P-selectin glycoprotein ligand 1*) é modificada pós-traducionalmente para apresentar o sialil Lewis X, que atua como principal carboidrato ligante para P-selectina. Várias moléculas diferentes podem apresentar os carboidratos ligantes para E-selectina, incluindo as glicoproteínas PSGL-1, o ligante-1 de E-selectina e alguns glicolipídeos.

Uma terceira selectina, denominada **L-selectina (CD62L)**, é expressa em leucócitos e não em células endoteliais. Os ligantes para L-selectinas são sialomucinas nas células endoteliais, cuja expressão é aumentada pela ativação das células pelas citocinas. O principal determinante de reconhecimento que a L-selectina liga nessas sialomucinas é o sialil 6-sulfo Lewis X. A L-selectina dos neutrófilos promove a adesão destas células às células endoteliais que são ativadas por IL-1, TNF e outras citocinas inflamatórias. Na imunidade adaptativa, a L--selectina é necessária para a entrada dos linfócitos T e B *naive* nos linfonodos através de vasos sanguíneos especializados, chamados **vênulas de endotélio alto** (**HEV**, do inglês, *high endothelial venules*). Os ligantes de sialomucinas nas HEVs que se ligam à L-selectina nos linfócitos *naive* são coletivamente denominados adressinas de nodo periférico (PNAd, do inglês, *peripheral node addressin*). Os leucócitos expressam L-selectina e os carboidratos ligantes de P-

selectina e E-selectina nas extremidades de seus microvilos, facilitando as interações com moléculas presentes na superfície da célula endotelial.

Integrinas e Ligantes de Integrinas

As integrinas são proteínas de superfície celular que medeiam a adesão entre células ou entre células e matriz extracelular, por meio de interações específicas de ligação a vários ligantes. Existem mais de 30 integrinas diferentes, todas heterodímeros contendo um dentre mais de 15 tipos de cadeias α e uma dentre sete tipos de cadeias β. As cabeças globulares extracelulares de ambas as cadeias contribuem para a ligação ao ligante. Os domínios citoplasmáticos das integrinas interagem com componentes do citoesqueleto (incluindo vinculina, talina, actina, α-actinina e tropomiosina). O nome integrina dado a essa família de proteínas deriva da ideia de que essas proteínas integram sinais disparados por ligantes extracelulares com motilidade dependente de citoesqueleto, mudança de forma e respostas fagocíticas. Apesar de focarmos nas funções adesivas intercelulares das integrinas, há ampla evidência de que elas transduzem vários sinais de ativação em diferentes tipos celulares.

No sistema imune, duas importantes integrinas expressas nos leucócitos são o antígeno 1 associado à função do leucócito (**LFA-1**, do inglês, *leukocyte function-associated antigen 1*), mais precisamente chamada $\alpha_L\beta_2$ CD11aCD18), e o antígeno 4 muito tardio (**VLA-4**, do inglês, *very late antigen 4*) ou $\alpha_4\beta_1$ ou CD49dCD29 (Tabela 3.1). Um importante ligante de LFA-1 é a molécula de adesão intercelular 1 (**ICAM-1**, do inglês, *intercelular adhesion molecule 1*, ou CD54), uma glicoproteína de membrana expressa nas células endoteliais ativadas por citocinas e em uma variedade de outros tipos celulares, incluindo linfócitos, DCs, macrófagos, fibroblastos e a maioria das células epiteliais. A porção extracelular da ICAM-1 é composta de domínios globulares, denominados domínios de imunoglobulinas (Ig), os quais compartilham homologia de sequência e características estruturais com domínios encontrados nas moléculas de Ig. Muitas proteínas no sistema imune contêm domínios Ig e pertencem à superfamília de Ig (Capítulo 5). A ligação de LFA-1 à ICAM-1 é importante para as interações leucócito-endotélio (discutidas mais adiante) e interações das células T com células apresentadoras de antígenos (Capítulo 9). Dois outros ligantes para LFA-1 da superfamília de Ig são a ICAM-2, expressa nas células endoteliais, e a ICAM-3, expressa nos linfócitos. VLA-4 se liga à molécula de adesão celular vascular 1 (**VCAM-1**, do inglês, *vascular cell adhesion molecule 1*, ou CD106), uma proteína da

superfamília de Ig expressa nas células endoteliais ativadas por citocina em alguns tecidos. Outras integrinas também têm papel nas respostas imunes inata e adaptativa. Por exemplo, Mac-1 ($\alpha_M\beta_2$, CD11bCD18) nos monócitos circulantes se liga à ICAM-1 e medeia a adesão ao endotélio. Mac-1 também funciona como um receptor do complemento, ligando partículas opsonizadas com um produto da ativação do complemento chamado fragmento C3b inativado (iC3b) (discutido nos Capítulos 4 e 13), aumentando, desse modo, a fagocitose de microrganismos. A integrina $\alpha_4\beta_7$ é expressa nos linfócitos que chegam à mucosa intestinal e liga-se a uma proteína endotelial chamada molécula de adesão celular adressina de mucosa 1 (MadCAM-1, do inglês, *mucosal addressin cell adhesion molecule 1*). A $\alpha_E\beta_7$ (CD103) é uma integrina que se liga a uma molécula de adesão epitelial denominada E-caderina. A $\alpha_E\beta_7$ é expressa em subpopulações de células T e DCs que são encontradas no interior das camadas epiteliais das mucosas.

As integrinas aumentam rapidamente a afinidade pelos seus ligantes em resposta a sinais intracelulares, os quais são induzidos em todos os leucócitos em resposta à ligação da quimiocina ao receptor de quimiocina e em células T pela ligação do antígeno aos receptores antigênicos (Fig. 3.2). A ocupação do receptor de quimiocina e do receptor antigênico desencadeia numerosas vias de sinalização (descritas em mais detalhes no Capítulo 7). Esses sinais eventualmente levam à associação de moléculas da família RAP e proteínas de interação do citoesqueleto com as caudas citoplasmáticas das proteínas integrinas resultando em alterações conformacionais nos domínios extracelulares das integrinas que levam ao aumento da afinidade. No estado de baixa afinidade, as hastes dos domínios extracelulares de cada subunidade de integrina se inclinam, e as cabeças globulares de ligação ao ligante permanecem próximas à membrana plasmática. Em resposta a alterações na cauda citoplasmática, as hastes se estendem, afastando as cabeças globulares da membrana para uma posição em que elas interagem mais efetivamente com seus ligantes (Fig. 3.2) O processo pelo qual os sinais intracelulares, gerados em resposta às quimiocinas ou ao antígeno, alteram as funções de ligação do domínio extracelular das integrinas é chamado de “sinal de dentro para fora”.

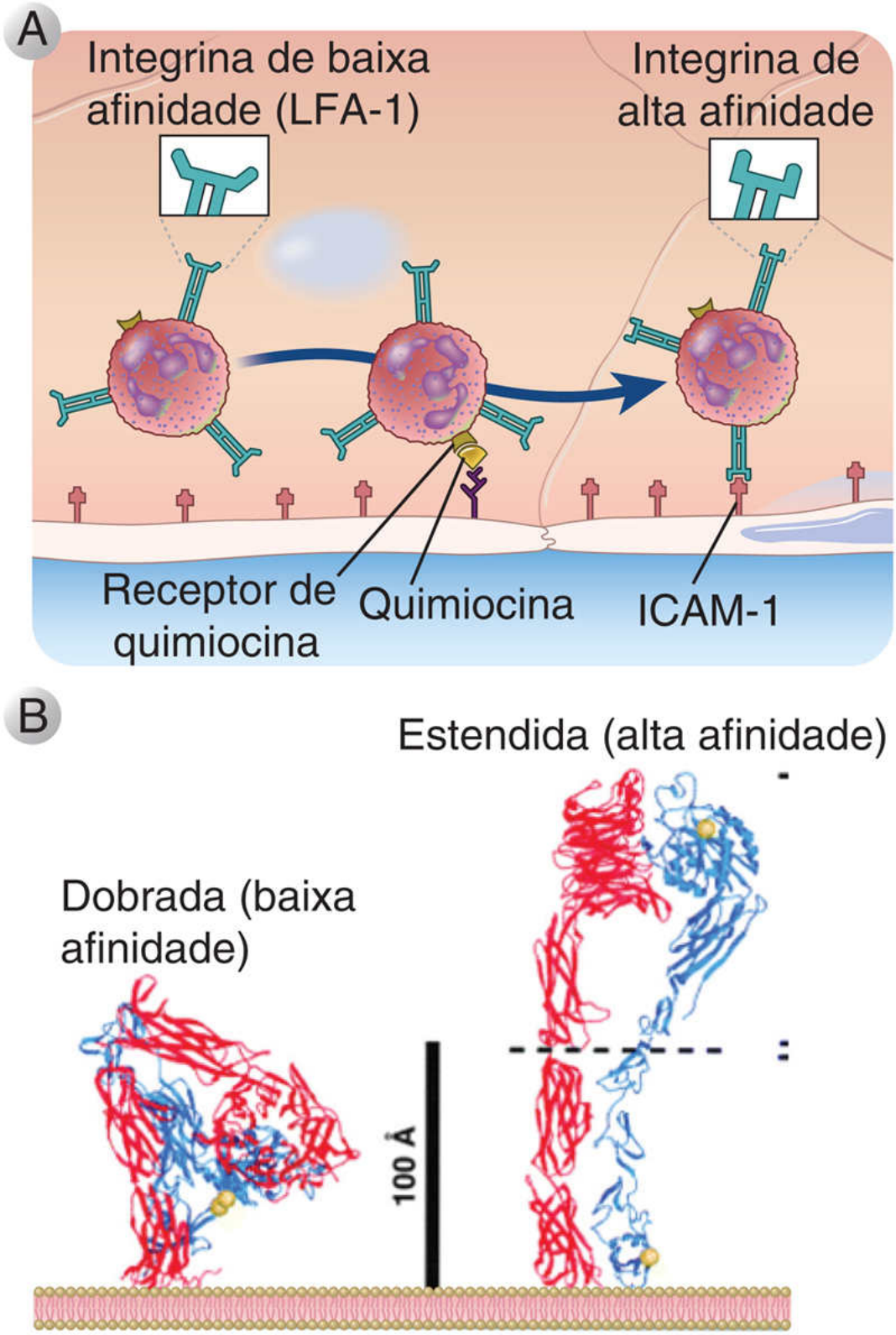


FIGURA 3.2 Ativação das integrinas.
A, As integrinas nos leucócitos sanguíneos normalmente encontram-se em um estado de baixa afinidade. Se um leucócito se

aproxima das células endoteliais, como ocorre durante o rolamento de leucócitos dependente de selectina, as quimiocinas expostas na superfície endotelial podem se ligar aos receptores de quimiocinas no leucócito. A sinalização pelo receptor de quimiocina ocorre, ativando as integrinas do leucócito e aumentando da sua afinidade pelos seus ligantes presentes nas células endoteliais. **B,** Os diagramas de fitas mostram as conformações dobrada e estendida de uma integrina leucocitária, correspondendo aos estados de baixa e alta afinidade, respectivamente. ICAM-1 molécula de adesão intercelular 1. (**B,** De Takagi J, Springer TA: Integrin activation and structural rearrangement, Immunological Reviews 186:141–163, 2002.)

As quimiocinas também induzem o agrupamento das integrinas na superfície dos leucócitos. Isso resulta em uma maior concentração local de integrinas nos sítios de interação com as células endoteliais, onde as quimiocinas são expostas, levando ao aumento total da força (ou avidez) das ligações dos leucócitos ao endotélio mediado pelas integrinas.

Quimiocinas e Receptores de Quimiocinas

As quimiocinas são uma grande família de citocinas estruturalmente homólogas que estimulam o movimento dos leucócitos e regulam a migração dos leucócitos do sangue para os tecidos. O nome quimiocina é uma contração de citocina quimiotática. O papel das quimiocinas na organização dos tecidos linfoides é abordado no Capítulo 2, e, a seguir, descreveremos as propriedades gerais dessa família de citocinas e suas múltiplas funções na imunidade inata e adaptativa. A Tabela 3.2 resume as principais características de selecionadas quimiocinas e seus receptores.

Tabela 3.2

Quimiocinas e Receptores de Quimiocinas Selecionados

Quimiocina	Nome Original	Receptor da Quimiocina	Principal Função
Quimiocinas CC			
CCL2	MCP-1	CCR2	Recrutamento de diversos leucócitos
CCL3	MIP-1α	CCR1, CCR5	Recrutamento de diversos leucócitos
CCL4	MIP-1β	CCR5	Recrutamento de células T, células dendríticas, monócitos e NK; correceptor para o HIV
CCL5	RANTES	CCR1, CCR3, CCR5	Recrutamento de diversos leucócitos
CCL11	Eotaxina	CCR3	Recrutamento de eosinófilos, basófilos e Th2
CCL17	TARC	CCR4	Recrutamento de células T
CCL19	MIP-3β/ELC	CCR7	Migração de células T e células dendríticas para as zonas parafoliculares dos linfonodos
CCL21	SLC	CCR7	Migração de células T e células dendríticas para as zonas parafoliculares dos linfonodos
CCL22	MDC	CCR4	Recrutamento de células NK e células T
CCL25	TECK	CCR9	Recrutamento de linfócitos para o intestino
CCL27	CTACK	CCR10	Recrutamento de células T para a pele
Quimiocinas CXC			
CXCL1	GROα	CXCR2	Recrutamento de neutrófilos
CXCL8	IL-8	CXCR1, CXCR2	Recrutamento de neutrófilos
CXCL9	Mig	CXCR3	Recrutamento de células T efetoras
CXCL10	IP-10	CXCR3	Recrutamento de células T efetoras
CXCL12	SDF1	CXCR4	Migração de células B para os linfonodos; migração de células plasmáticas para a medula óssea
CXCL13	BCA-1	CXCR5	Migração de células B para os linfonodos e para os folículos; migração da células T auxiliares foliculares para os folículos
Quimiocinas C			
XCL1	Linfotactina	XCR1	Recrutamento de célula T e célula NK

Quimiocina	Nome Original	Receptor da Quimiocina	Principal Função
Quimiocinas CX3C			
CX3CL1	Fractalcina	CX3CR1	Recrutamento de células T, células NK e monócitos

CTL, linfócito T citotóxico; *IL*, interleucina; *NK*, células *natural killer*.

Estrutura, Produção e Receptores de Quimiocinas

A maioria das quimiocinas são polipeptídios de 8 a 10 kDa que contêm duas alças dissulfeto internas. Existem 47 quimiocinas humanas, classificadas em quatro famílias com base no número e localização de dois dos quatro resíduos de cisteína conservados. As duas principais famílias são as quimiocinas CC (também chamadas β), nas quais os dois resíduos de cisteína são adjacentes, e as quimiocinas CXC (ou α), nas quais esses resíduos são separados por um aminoácido. Essas diferenças se correlacionam com a organização das subfamílias em grupos gênicos separados. Algumas quimiocinas adicionais têm uma única cisteína (família C) ou duas cisteínas separadas por três aminoácidos (CX3C). Existem duas variações estruturais das quimiocinas CXC, algumas que possuem a sequência de aminoácidos ácido glutâmico-leucina-arginina (denominados motivos ELR) antes da primeira cisteína do motivo CXC, e outras que não possuem o motivo ELR. Somente as quimiocinas CXC com motivos ELR favorecem a migração de neutrófilos. As outras quimiocinas CXC e as quimiocinas CC atuam nos monócitos, linfócitos e outros leucócitos. As quimiocinas foram originalmente denominadas com base no modo de sua identificação e nas respostas desencadeadas, mas uma nomenclatura padrão foi adotada e organizada com os nomes dos receptores aos quais as quimiocinas se ligam (Tabela 3.2). As quimiocinas CC são nomeadas desde CCL1 até CCL28 e as quimiocinas CXC são nomeadas desde CXCL1 até CXCL17.

As quimiocinas das subfamílias CC e CXC são produzidas pelos leucócitos e por vários tipos de células teciduais, tais como células endoteliais, células epiteliais, macrófagos residentes, fibroblastos e outras células estromais. Em muitas dessas células, a secreção das quimiocinas é induzida pelo reconhecimento dos microrganismos por meio de vários receptores celulares do sistema imune inato, conforme discutido no Capítulo 4. Além disso, as citocinas inflamatórias, incluindo TNF, IL-1 e IL-17, induzem a produção de quimiocinas. Várias quimiocinas CC também são produzidas por células T ativadas, fornecendo uma ligação

entre a imunidade adaptativa e o recrutamento de leucócitos inflamatórios.

Os receptores para quimiocinas pertencem à superfamília de receptores acoplados à proteína ligadora de trifosfato de guanosina (proteína G) de sete alças transmembrana, (GPCR*, do inglês,* guanosine triphosphate-binding protein-coupled receptor*).* Esses receptores iniciam respostas intracelulares por meio da associação trimérica de proteínas G. Todos os receptores de quimiocinas que medeiam a migração de células do sistema imune compartilham um motivo de sequência de aminoácidos (DRYLAI) no final do terceiro domínio transmembrana, o qual é necessário para a interação com as proteínas G. As proteínas G estimulam a sinalização de eventos que resultam em modificações no citoesqueleto e na polimerização dos filamentos de actina e de miosina, resultando em aumento da motilidade celular. Como discutido previamente, esses sinais também alteram a conformação das integrinas da superfície celular e aumentam a afinidade das integrinas por seus ligantes.

Diferentes combinações de receptores de quimiocinas são expressas em diferentes tipos de leucócitos, os quais medeiam padrões distintos de migração dos leucócitos. Existem 10 receptores diferentes para as quimiocinas CC (chamados de CCR1 a CCR10), sete para as quimiocinas CXC (chamados de CXCR1 a CXCR6 e CXCR8), um para as C quimiocinas (chamado XCR1) e um para CX3CL1 (chamado de CX3CR1) (Tabela 3.2). Os receptores de quimiocinas são expressos em todos os leucócitos, sendo o maior número e diversidade observados nas células T. Os receptores exibem uma sobreposição de especificidade para quimiocinas dentro de cada família, e o padrão da expressão celular dos receptores determina quais os tipos celulares respondem a quais quimiocinas. Certos receptores de quimiocinas, especialmente CCR5 e CXCR4, agem como correceptores para o vírus da imunodeficiência humana (HIV) (Capítulo 21).

Um conjunto distinto de receptores de quimiocinas, chamados receptores de quimiocinas atípicos (ACKRs, do inglês, *atypical chemokine receptors*), não envolve as vias de sinalização do heterodímero de proteína G que ativam os leucócitos, mas estão envolvidos na inibição ou na finalização das respostas de quimiocinas nas células. Existem quatro ACKRs confirmados em humanos, os quais se ligam com alta afinidade a uma grande variedade de quimiocinas inflamatórias, sinalizando por meio de uma via dependente de β-arrestinas e simulando a internalização e a degradação das quimiocinas.

Ações Biológicas das Quimiocinas

Algumas quimiocinas são produzidas pelas células em resposta a estímulos externos e estão envolvidas em reações inflamatórias. Outras quimiocinas são produzidas constitutivamente nos tecidos e mantêm a distribuição de células nesses tecidos, tal como a localização das células T e B nos órgãos linfóides.

- Nas reações inflamatórias, as quimiocinas atuam no recrutamento de leucócitos circulantes dos vasos sanguíneos para os sítios extravasculares. Diferentes grupos de quimiocinas se ligam aos receptores de quimiocinas presentes em diferentes tipos celulares e, em conjunto com os tipos de moléculas de adesão expressos, controlam a natureza do infiltrado inflamatório.

As quimiocinas têm dois papéis na inflamação:

- ***Aumentar a adesão dos leucócitos ao endotélio.*** As quimiocinas produzidas nos tecidos se ligam a proteoglicanas de heparan sulfato nas células endoteliais que revestem as vênulas pós-capilares. As quimiocinas ligadas às proteoglicanas são, dessa forma, exibidas aos leucócitos circulantes ligados às superfícies endoteliais por meio de interações com moléculas de adesão. Essa exposição do endotélio proporciona uma alta concentração local de quimiocinas, possibilitando que estas se liguem aos receptores de quimiocinas nos leucócitos. Os sinais dos receptores de quimiocinas levam ao aumento da afinidade da integrina resultando na firme adesão do leucócito, um passo fundamental para a migração dos leucócitos para fora dos vasos sanguíneos em direção ao tecido extravascular.
- ***Migração dos leucócitos através dos vasos e em direção ao sítio de infecção ou de tecido danificado.*** As quimiocinas produzidas nos tecidos extravasculares atuam nos leucócitos que aderiram ao endotélio e saíram da circulação. As quimiocinas estimulam o movimento dos leucócitos ao longo de um gradiente de concentração da proteína secretada em direção à sua fonte, um processo denominado quimiotaxia (ou quimioatração). Assim, os leucócitos migram em direção às células infectadas e lesadas nos tecidos, onde as quimiocinas são produzidas.

- ***As quimiocinas estão envolvidas no desenvolvimento dos órgãos linfoides e regulam o tráfego dos linfócitos e outros leucócitos através das diferentes regiões dos órgãos linfoides secundários.*** Como essas quimiocinas são expressas constitutivamente e mantêm a arquitetura normal do tecido, são referidas como homeostáticas. Discutimos a função das quimiocinas na organização anatômica dos tecidos linfoides no Capítulo 2. Algumas quimiocinas homeostáticas também são induzidas em condições inflamatórias e contribuem para a migração de leucócitos dos vasos sanguíneos para os tecidos.
- ***As quimiocinas são necessárias para a migração das DCs dos sítios de infecção para os linfonodos drenantes***. As DCs são ativadas pelos microrganismos nos tecidos periféricos e, então, migram para os linfonodos para informar aos linfócitos T sobre a presença da infecção (conforme discutido no Capítulo 6). Essa migração depende da expressão de um receptor de quimiocina, CCR7, induzido quando a DC encontra os microrganismos, e de quimiocinas produzidas nos linfáticos e tecidos linfoides, que ligam CCR7. As células T *naive* também expressam o CCR7, e isso explica como as DCs e as células T *naive* localizam o mesmo sítio nos linfonodos, permitindo que as DCs apresentem o antígeno para as células T.

Interações Leucócito-endotélio e Recrutamento de Leucócitos para os Tecidos

O recrutamento de leucócitos do sangue para os tecidos requer a adesão dos leucócitos ao revestimento endotelial das vênulas pós-capilares e, consequentemente, o movimento através do endotélio e da parede do vaso para o tecido extravascular. Esse é um processo de múltiplos passos em que cada etapa é orquestrada por diferentes tipos de moléculas de adesão e quimiocinas. Estudos das interações entre os leucócitos e o endotélio *in vitro*, sob condições que mimetizam o fluxo sanguíneo, e *in vivo*, usando técnicas de microscopia intravital, estabeleceram uma sequência de eventos comuns para a migração da maioria dos leucócitos na maior parte dos tecidos (Fig. 3.3). As etapas desse processo são descritas a seguir.

- ***Rolamento de leucócitos sobre o endotélio mediado por selectina.*** Macrófagos, DCs e outras células que encontram microrganismos nos tecidos extravasculares são ativadas para secretar citocinas, incluindo TNF e IL-1. Essas citocinas estimulam a expressão de E-selectina pelas células endoteliais que revestem as vênulas pós-capilares. As células endoteliais também expressam P-selectina em resposta à histamina, liberada pelos mastócitos ativados por microrganismos, e em resposta à trombina, produzida durante a coagulação sanguínea que normalmente ocorre em reações inflamatórias. Nos sítios de inflamação, os vasos sanguíneos se dilatam, e o fluxo sanguíneo fica mais lento. Como resultado, os leucócitos, que são maiores do que as hemácias, tendem a se mover para fora do eixo axial central do fluxo sanguíneo e mais próximos do revestimento do vaso, um processo conhecido como marginação. Isso permite que os ligantes para E- e P-selectinas expressos nos microvilos dos leucócitos se liguem às selectinas induzidas nas células endoteliais. Pelo fato de as interações entre a selectina e seu ligante serem de baixa afinidade ($K_d \sim 100\ \mu m$), com uma taxa de desligamento rápida, as mesmas são facilmente rompidas pela força de cisalhamento do fluxo sanguíneo. Como resultado, os leucócitos são empurrados em um movimento de rolamento ao longo da superfície endotelial, onde as ligações entre

selectina e seu ligante são repetidamente formadas e quebradas. Essa desaceleração do movimento dos leucócitos sobre o endotélio permite que o próximo conjunto de estímulos, de um processo de múltiplos passos, atue sobre os leucócitos.

- ***Aumento na afinidade das integrinas mediada pelas quimiocinas***. As quimiocinas expostas nas células endoteliais das vênulas pós-capilares no sítio de uma infecção se ligam aos seus receptores nos leucócitos em rolamento. Como discutido anteriormente, isso resulta em uma ligação mais forte entre as integrinas dos leucócitos e seus ligantes na superfície endotelial.
- ***Retenção estável dos leucócitos ao endotélio mediada pelas integrinas***. Em paralelo à ativação das integrinas, a expressão de seus ligantes nas células endoteliais é regulada positivamente por citocinas inflamatórias e produtos microbianos. Esses ligantes incluem VCAM-1, a qual se liga à integrina VLA-4, e ICAM-1, a qual se liga às integrinas LFA-1 e Mac-1. Assim, os leucócitos se ligam firmemente ao endotélio, seu citoesqueleto é reorganizado e eles se espalham para fora da superfície endotelial.
- ***Transmigração de leucócitos através do endotélio***. Os leucócitos geralmente transmigram por entre as bordas das células endoteliais, processo chamado de transmigração paracelular ou diapedese, para alcançar os tecidos extravasculares. A transmigração paracelular depende de interações entre as integrinas leucocitárias e seus ligantes nas células endoteliais, assim como da contribuição de outras proteínas, especialmente CD31, expressa nos leucócitos e células endoteliais. Esse processo necessita de um rompimento transiente e reversível das proteínas das junções aderentes, primariamente o complexo VE-caderina, que mantém as células endoteliais unidas. O mecanismo responsável pelo rompimento do complexo VE-caderina envolve a ativação de quinases quando as integrinas dos leucócitos se ligam a ICAM-1 ou VCAM-1. As quinases fosforilam a cauda citoplasmática de VE-caderina e levam ao rompimento reversível dos complexos aderentes. Menos frequentemente, foi observado o movimento dos leucócitos através das células endoteliais, e não entre elas, por um processo pouco compreendido chamado de migração transcelular.

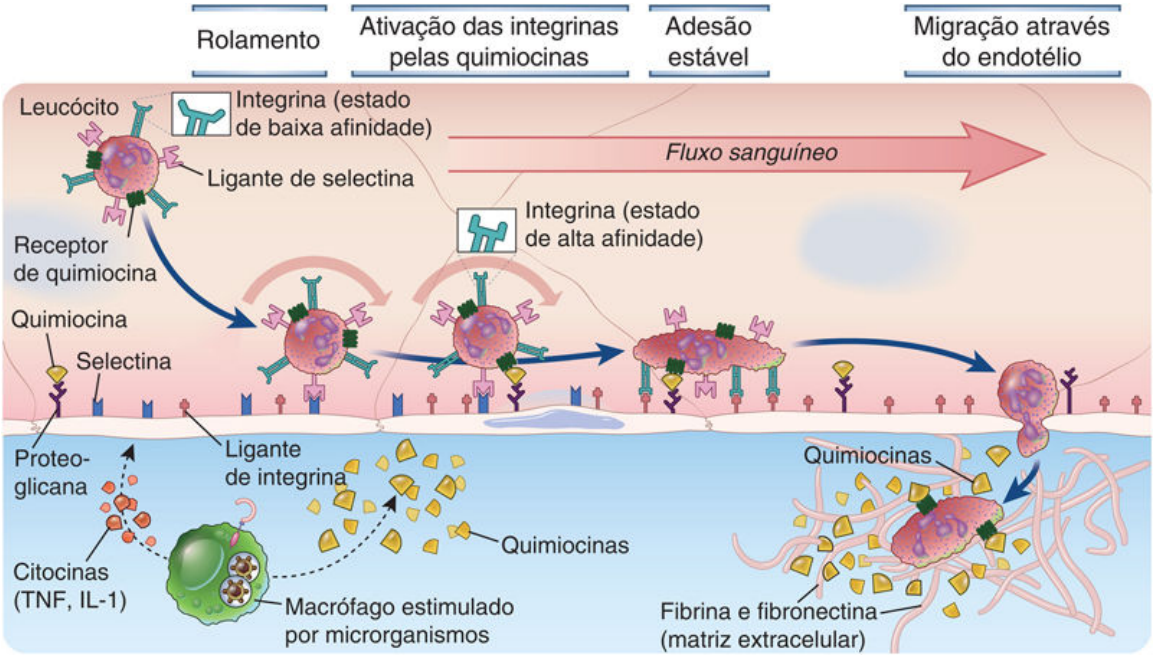


FIGURA 3.3 Interações de múltiplos passos leucócito-endotélio mediando o recrutamento de leucócitos para os tecidos.
Nos sítios de infecção, os macrófagos que encontraram microrganismos produzem citocinas (tais como TNF e IL-1) que ativam as células endoteliais de vênulas próximas a produzirem selectinas, ligantes para integrinas e quimiocinas. As selectinas medeiam a adesão fraca dos leucócitos sanguíneos ao endotélio, e a força de cisalhamento do fluxo sanguíneo faz os leucócitos rolarem ao longo da superfície endotelial. As quimiocinas produzidas nos tecidos infectados circundantes ou pelas células endoteliais são expostas na superfície endotelial e se ligam a receptores presentes nos leucócitos em rolamento, o que resulta em ativação das integrinas do leucócito para um estado de alta afinidade de ligação. As integrinas ativadas se ligam aos seus ligantes da superfamília de Ig presentes nas células endoteliais, mediando a firme adesão dos leucócitos. Os leucócitos se arrastam pelas junções entre as células endoteliais e migram através da parede venular. Neutrófilos, monócitos e linfócitos T utilizam essencialmente os mesmos mecanismos para migrar para fora do sangue. *IL-1*, interleucina-1; *TNF*, fator de necrose tumoral.

Esses passos básicos são vistos na migração de todos os leucócitos através do endotélio. Entretanto, neutrófilos, monócitos e subpopulações distintas de linfócitos diferem quanto aos tecidos-alvo e ao momento em que migram nas reações inflamatórias e no estado de equilíbrio. Esses padrões da migração leucocitária são dependentes de distintas

combinações de moléculas de adesão e de receptores de quimiocinas, como discutiremos em mais detalhes posteriormente.

Evidências do papel essencial das selectinas, integrinas e quimiocinas na migração de leucócitos surgiram primeiramente a partir de camundongos *knockout* gênicos e, então, pela descoberta de doenças hereditárias humanas raras chamadas de **deficiências de adesão leucocitária** (Capítulo 21). Uma deficiência autossômica recessiva hereditária no gene *CD18*, o qual codifica a subunidade β de LFA-1 e Mac-1, é a causa de uma doença de imunodeficiência denominada deficiência de adesão leucocitária do tipo 1 (LAD-1, do inglês, *type 1 leukocyte adhesion deficiency*), caracterizada por defeitos na migração de leucócitos e nas respostas imunes. Pacientes humanos que não possuem o transportador de GDP-fucose no aparelho de Golgi, necessário para a expressão dos carboidratos ligantes para E--selectina e P-selectina em neutrófilos, apresentam problemas semelhantes, resultando em uma síndrome denominada deficiência de adesão leucocitária do tipo 2 (LAD-2). Esses distúrbios são caracterizados por infecções bacterianas e fúngicas recorrentes, ausência do acúmulo de neutrófilos nos sítios de infecção e defeitos nas funções dos linfócitos dependentes de aderência. Mutações humanas raras nas vias de sinalização que conectam os receptores de quimiocinas à ativação das integrinas também resultam no comprometimento da adesão leucocitária e no recrutamento de leucócitos para os tecidos e, consequentemente, na defesa ineficiente dos leucócitos contra as infecções, caracterizando uma síndrome denominada deficiência de adesão leucocitária do tipo 3 (LAD-3).

Migração de neutrófilos e monócitos para sítios de infecção ou de lesão tecidual

Após a maturação na medula óssea, neutrófilos e monócitos entram no sangue e circulam por todo o corpo. Embora essas células possam realizar algumas funções fagocíticas no sangue, suas principais funções, incluindo a fagocitose e a destruição dos microrganismos e de células teciduais mortas, ocorrem em sítios extravasculares de infecção, praticamente em qualquer parte do corpo.

Neutrófilos e monócitos sanguíneos são recrutados para os sítios teciduais de infecção e lesão por um processo de múltiplos passos dependente de selectinas, integrinas e quimiocinas, o qual segue uma sequência básica comum para a migração de todos os leucócitos para os tecidos, como já discutido anteriormente. Conforme discutiremos em detalhes no Capítulo 4, os neutrófilos são o primeiro tipo de leucócito recrutado do sangue para o sítio de infecção ou lesão tecidual. O recrutamento de monócitos ocorre horas depois e continua, provavelmente por dias, após a parada no recrutamento dos neutrófilos. Além disso, em alguns sítios inflamatórios, os neutrófilos não são recrutados, mas os monócitos o são. Esses diferentes comportamentos migratórios provavelmente refletem variações na expressão relativa de moléculas de adesão e receptores de quimiocinas nos neutrófilos em comparação aos monócitos. Os neutrófilos expressam CXCR1 e CXCR2, os quais se ligam a CXCL1 e CXCL8 (IL-8), a principal quimiocina com motivos ELR que mantém a migração dos neutrófilos para os tecidos (Tabela 3.2). O recrutamento inicial dos neutrófilos é uma consequência da produção precoce e abundante de CXCL8 pelos macrófagos residentes nos tecidos e outras células em resposta às infecções. Contrapondo-se aos neutrófilos, os monócitos clássicos, o principal tipo de monócito recrutado para os sítios inflamatórios, expressam CCR2. Esse receptor se liga a várias quimiocinas, sendo a CCL2 (MCP-1) a mais importante para o recrutamento de monócitos. Assim, o recrutamento de monócitos ocorre quando as células teciduais produzem CCL2 em resposta à infecção.

Migração e Recirculação de Linfócitos T

Os linfócitos estão continuamente se movendo através do sangue, vasos linfáticos, órgãos linfoides secundários e tecidos não linfoides periféricos, e populações distintas de linfócitos mostram diferentes padrões de tráfego através destes locais (Fig. 3.4). Quando as células T *naive* maduras emergem do timo e entram no sangue, chegam aos linfonodos, ao baço ou aos tecidos linfoides das mucosas e migram para as zonas de células T desses tecidos linfoides secundários. Se a célula T não reconhecer o antígeno nesses locais, permanece em um estado *naive* e deixa os nodos ou o tecido de mucosa através dos linfáticos, sendo eventualmente drenada de volta para a corrente sanguínea. Uma vez de volta ao sangue, a célula T *naive* repete seu ciclo, passando pelos tecidos linfoides secundários. Esse padrão no tráfego dos linfócitos *naive*, chamado **recirculação de linfócitos**, maximiza as chances do pequeno número de linfócitos *naive*, que são específicos para um antígeno estranho em particular, encontrar esse antígeno se ele surgir em qualquer parte do corpo. Os linfócitos que reconhecerem e se tornarem ativados pelo antígeno dentro dos tecidos linfoides secundários proliferam e se diferenciam para produzir milhares de células efetoras e de memória. Os linfócitos efetores e de memória podem voltar para a corrente sanguínea e, então, migrar para os sítios de infecção ou inflamação em tecidos não linfoides.

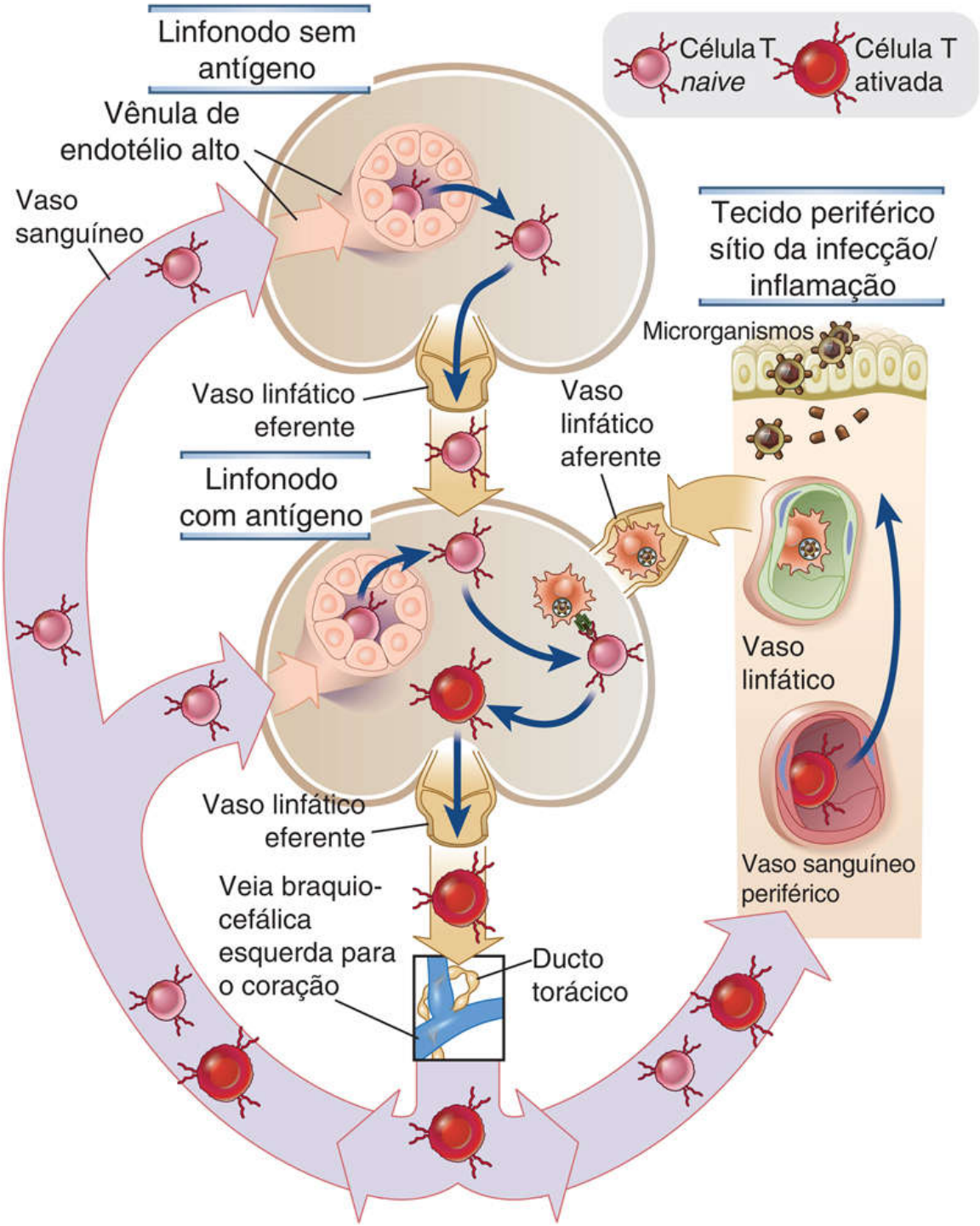


FIGURA 3.4 Vias de recirculação dos linfócitos T.
As células T *naive* deixam o sangue e entram nos linfonodos preferencialmente através das HEVs. As DCs portadoras de antígenos entram nos linfonodos através dos vasos linfáticos. Se as células T reconhecerem o antígeno, tornam-se ativadas e retornam para a circulação através dos vasos linfáticos eferentes e do ducto torácico, o qual desemboca na veia cava superior, então no coração

e, finalmente, na circulação arterial. As células T efetoras e de memória preferencialmente deixam o sangue e entram nos tecidos periféricos através das vênulas nos sítios de inflamação. A recirculação através de outros órgãos linfoides periféricos que não os linfonodos não é mostrada.

Algumas subpopulações de linfócitos efetores e de memória preferencialmente populam um tecido em particular, como a pele ou intestino (Capítulo 14). A existência de diferentes padrões de *homing* garante que diferentes subpopulações de linfócitos sejam distribuídos para os microambientes teciduais onde são necessários para combater diferentes tipos de microrganismos, e não sejam desperdiçados em locais onde não teriam propósito algum.

Na seção a seguir, descreveremos os mecanismos e as vias de recirculação e *homing* de linfócitos. Nossa discussão enfatiza as células T, porque sabe-se mais sobre seu movimento através dos tecidos do que sobre a recirculação da célula B, embora muitos mecanismos pareçam se aplicar a ambos os tipos celulares.

Recirculação de Linfócitos *Naive* entre o Sangue e os Órgãos Linfoides Secundários

A recirculação do linfócito T depende de mecanismos que controlam a entrada das células T *naive* nos linfonodos a partir do sangue, assim como de sinais moleculares que controlam a saída das células T *naive* desses nodos. Discutiremos esses dois mecanismos separadamente.

Migração de Células T *Naive* para os Linfonodos

Os mecanismos de *homing* que trazem as células T *naive* para os linfonodos são muito eficientes, resultando em uma rede de fluxo de linfócitos através dos linfonodos estimada em até 25×10^9 células a cada dia. Em média, cada linfócito do corpo passa por um nodo uma vez ao dia. A inflamação no tecido periférico, a qual normalmente acompanha as infecções, causa um aumento significativo no fluxo sanguíneo para os linfonodos e, consequentemente, um aumento no influxo de células T para os linfonodos que drenam o sítio da inflamação. Ao mesmo tempo, a saída das células T para os linfáticos eferentes é transientemente reduzida por mecanismos que discutiremos posteriormente, de tal forma que as células T permanecem por mais tempo nos linfonodos que drenam os sítios de inflamação do que em outros linfonodos. Os antígenos proteicos são

concentrados nos linfonodos e em outros órgãos linfoides secundários, onde são apresentados às células T pelas DCs, o tipo de célula apresentadora de antígeno com maior capacidade de iniciar as respostas das células T *naive* (Capítulo 6). Assim, o movimento e retenção transiente das células T *naive* nos órgãos linfoides secundários, juntamente à captura e concentração de antígeno, maximizam as chances de ativação da célula T e início de uma resposta imune adaptativa.

O* homing *das células T* naive *para os linfonodos e tecidos linfoides associados à mucosa ocorre através de vênulas pós-capilares de endotélio alto especializadas que estão localizadas nas zonas de células T. Os linfócitos T *naive* são distribuídos aos tecidos linfoides secundários através do fluxo sanguíneo arterial, deixam a circulação e migram para o estroma dos linfonodos através das HEVs. Esses vasos são revestidos por células endoteliais arredondadas e não pelas células endoteliais achatadas típicas de outras vênulas (Fig. 3.5). As HEVs também estão presentes nos tecidos linfoides de mucosa, tais como placas de Peyer no intestino, mas não no baço. As células endoteliais das HEVs são especializadas na exibição em suas superfícies de certas moléculas de adesão e quimiocinas, discutidas posteriormente, o que suporta o *homing* seletivo de apenas determinadas populações de linfócitos. Certas citocinas, como a linfotoxina, são necessárias para o desenvolvimento da HEV. De fato, as HEVs podem se desenvolver em sítios extralinfoides de inflamação crônica onde essas citocinas são produzidas por períodos prolongados.

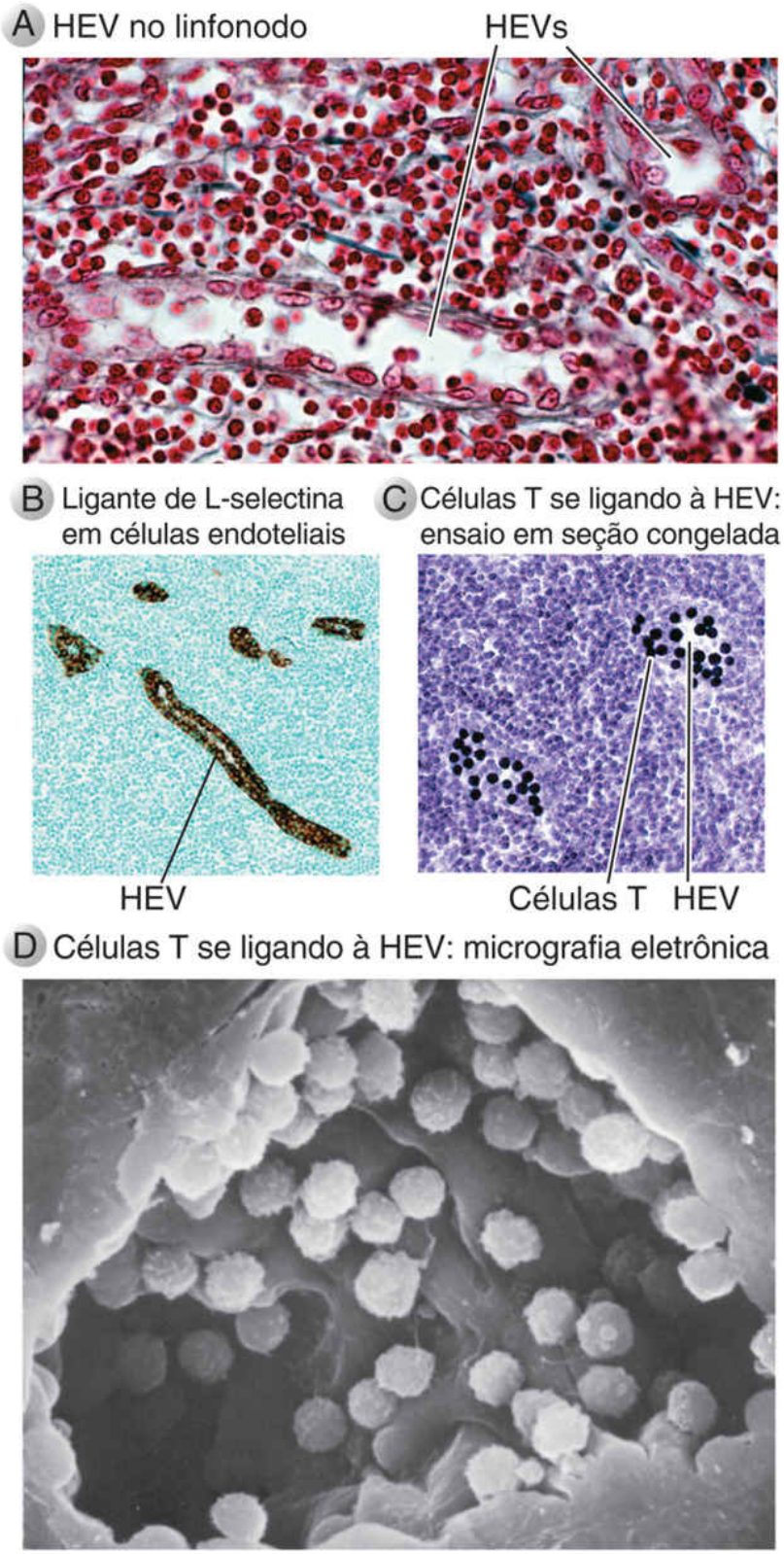


FIGURA 3.5 Vênulas de endotélio alto.
A, Micrografia de luz de uma HEV em um linfonodo, ilustrando as células endoteliais altas. *(Cortesia do Dr. Steve Rosen, Department*

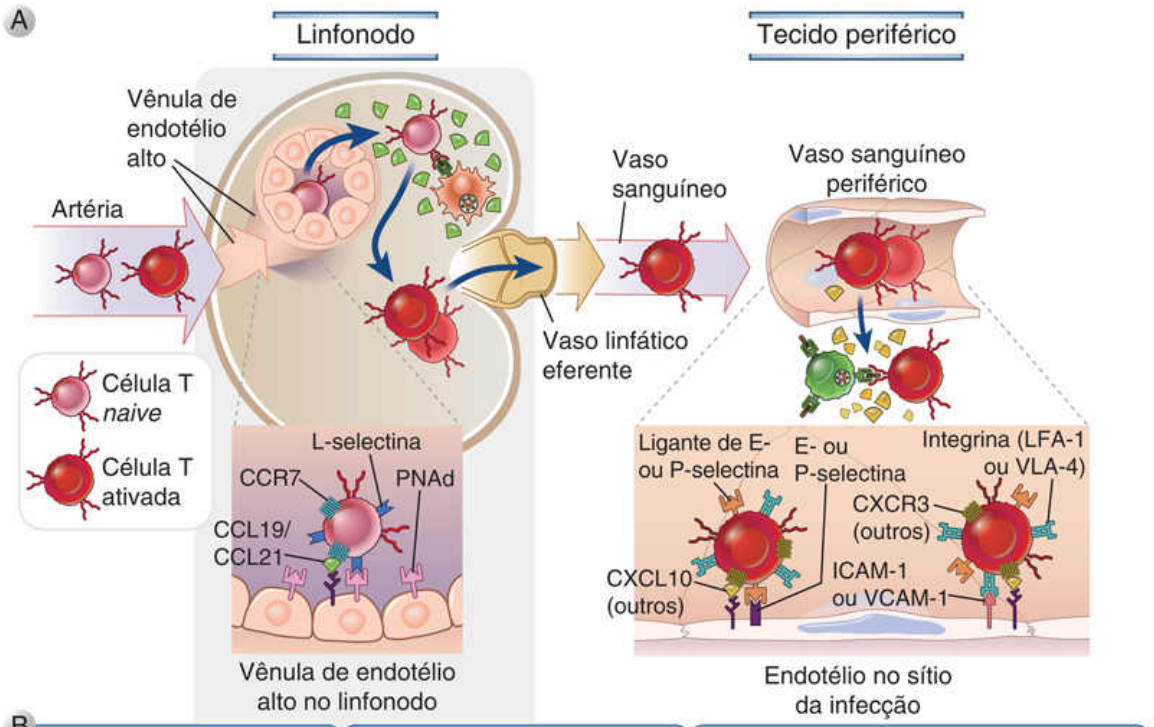
of Anatomy, University of California, San Francisco). **B,** Expressão do ligante de L-selectina nas HEVs, coradas com um anticorpo específico pela técnica de imunoperoxidase. (A localização do anticorpo é revelada por uma reação marrom produto da peroxidase, a qual está acoplada ao anticorpo; para detalhes, consulte o Apêndice III.) As HEVs são abundantes na zona de células T do linfonodo. *(Cortesia dos Drs. Steve Rosen e Akio Kikuta, Department of Anatomy, University of California, San Francisco.)* **C,** Ensaio de ligação no qual linfócitos são incubados com seções congeladas de um linfonodo. Os linfócitos (corados em azul-escuro) se ligam seletivamente às HEVs. *(Cortesia do Dr. Steve Rosen, Department of Anatomy, University of California, San Francisco)*. **D,** Micrografia eletrônica de varredura de uma HEV com linfócitos ligados à superfície luminal das células endoteliais. *HEV*, vênulas de endotélio alto. (Cortesia de J. Emerson e T. Yednock, University of California, San Francisco, School of Medicine. De Rosen SD, Stoolman LM: Potential role of cell surface lectin in lymphocyte recirculation. In Olden K, Parent J [Eds.]: Vertebrate lectins. New York, 1987, Van Nostrand Reinhold.)

A migração da célula T* naive *para fora do sangue através das HEVs em direção ao parênquima dos linfonodos envolve as moléculas de adesão L-seletina e LFA-1, assim como o receptor de quimiocina CCR7. Esse processo inclui eventos sequenciais descritos anteriormente para migração de todos os leucócitos (Fig. 3.3), mas a migração através das HEVs em tecidos linfóides envolve moléculas de adesão e quimiocinas particulares (Fig. 3.6).

- O rolamento das células T *naive* nas HEVs em órgãos linfoides secundários é mediado pela ligação entre a L--selectina dos linfócitos ao seu ligante PNAd, presente nas HEVs. O PNAd é um carboidrato sialil Lewis X 6-sulfatado ligado a um esqueleto glicoproteico. O grupamento carboidrato PNAd que se liga à L-selectina pode estar unido a diferentes sialomucinas nas HEVs em diferentes tecidos. Por exemplo, nas HEVs dos linfonodos, o ligante de L-seletina é exposto por duas sialomucinas, chamadas GlyCAM-1 (do inglês, *glycan-bearing cell adhesion molecule 1*) e CD34. Nas placas de Peyer junto à parede intestinal, o ligante de L-selectina é exibido sobre uma glicoproteína chamada de MadCAM-1, a qual também é ligante para a integrina $\alpha_4\beta_7$.
- Assim como na migração do leucócito em outros sítios, a adesão firme subsequente das células T *naive* às HEVs é mediada pelas

integrinas, principalmente a LFA-1.

- As principais quimiocinas que ativam as integrinas da célula T *naive* a um estado de alta afinidade são a CCL19 e a CCL21, as quais estão unicamente envolvidas no *homing* de leucócitos para as zonas de células T dos tecidos linfoides (Capítulo 2). A principal fonte de CCL19 e CCL21 são as células reticulares fibroblásticas (FRCs, do inglês, *fibroblast reticular cells*) dentro da zona de células T, e a CCL21 também é constitutivamente produzida pelas HEVs. Essas quimiocinas são expostas na superfície da HEV e reconhecidas pelos linfócitos em processo de rolamento. Ambas as quimiocinas se ligam ao receptor de quimiocina CCR7, expresso em altos níveis nos linfócitos T *naive*. Essa interação das quimiocinas com o CCR7 garante que as células T aumentem a avidez pela integrina e sejam capazes de aderir firmemente às HEVs. Lembre-se que o CCR7 também controla a migração da DC pelos linfáticos em direção aos linfonodos. O CXCR4 presente nas células T *naive* se liga a CXCL12 exibida na HEV e também contribui para a migração de células T *naive* para os órgãos linfoides.



B

Receptor de *homing* da célula T	Ligante na célula endotelial	Função do receptor: par do ligante
Células T *naive*		
L-selectina	PNAd	Adesão inicial fraca das células T à vênula de endotélio alto no linfonodo
CCR7	CCL19 ou CCL21	Ativação de integrinas e quimiocinese
LFA-1 (integrina β2)	ICAM-1	Retenção estável na vênulas de endotélio alto no linfonodo
Células T ativadas (efetoras e de memória)		
Ligante de E- e P-selectina	E- ou P-selectina	Adesão inicial fraca de células T efetoras e de memória ao endotélio ativado por citocina em sítios periféricos de infecção
CXCR3	CXCL10 (outros)	Ativação de integrinas e quimiocinese
CCR5	CCL4 (outros)	Ativação de integrinas e quimiocinese
LFA-1 (integrina β2) ou VLA-4 (integrina β1)	ICAM-1 ou VCAM-1	Retenção estável ao endotélio ativado por citocina em sítios periféricos de infecção

FIGURA 3.6 Moléculas envolvidas na migração de linfócitos T *naive* e efetores.

A, Os linfócitos T *naive* chegam aos linfonodos em consequência da ligação da L-selectina à PNAd das HEVs, a qual está presente somente nos órgãos linfoides secundários e exposta na superfície da vênula de endotélio alto como resultado da ligação das quimiocinas (CCL19 e CCL21). Os linfócitos T ativados, incluindo as

células efetoras, chegam aos sítios de infecção nos tecidos periféricos e esta migração é mediada por E-selectina e P-selectina, integrinas e quimiocinas que são produzidas nos sítios de infecção. Quimiocinas e receptores de quimiocinas adicionais, além dos mostrados, estão envolvidos na migração da célula T efetora/memória. **B,** As moléculas de adesão, quimiocinas e receptores de quimiocinas envolvidos na migração da célula T *naive* e efetora/memória são descritos. *ICAM-1,* molécula de adesão intercelular 1; *LFA-1,* antígeno associado à função de leucócito 1; *PNAd*, adressina de nodo periférico; *VCAM-1,* molécula de adesão celular vascular 1; *VLA-4,* antígeno muito tardio 4.

O importante papel da L-selectina e das quimiocinas no *homing* da célula T *naive* para os tecidos linfoides secundários é apoiado por muitas observações experimentais diferentes. Linfócitos de camundongos *knockout* para L-selectina não se ligam às HEVs dos linfonodos periféricos e os camundongos apresentam uma redução marcante no número de linfócitos nos linfonodos. Existem poucas células T *naive* nos linfonodos de camundongos com deficiências genéticas em CCL19 e CCL21, ou CCR7.

Movimento das Células T no Interior dos Órgãos Linfoides Secundários

Após entrarem nos linfonodos ou nos tecidos linfoides de mucosa, os linfócitos T e as DCs se movem ativamente de maneiras que maximizam as chances desses dois tipos celulares interagirem um com o outro. O início das respostas imunes mediadas por células T requer que as raras células T *naive* antígeno-específicas reconheçam os antígenos exibidos na superfície das DCs. Embora a expressão compartilhada de CCR7 promova a localização desses dois tipos de células na mesma área do linfonodo ou do tecido linfoide de mucosa, existem milhares de DCs e células T *naive* nesses locais. No entanto, as células T *naive* são notavelmente móveis dentro do linfonodo, movendo-se de modo semelhante às amebas, a uma velocidade de até 12 μm/minuto. O movimento das células T é estimulado pela ligação de CCL21 ao CCR7 nas células T. As FRCs que secretam CCL19 e CCL21 formam redes tridimensionais que atravessam as zonas de células T do linfonodo e as células T se movem ao longo dessas trilhas de FRC. As DCs também estão distribuídas ao longo da rede de FRC cobrindo a maior parte da superfície. Embora sejam sésseis, as DCs estendem constantemente seus dendritos em diferentes direções. Como resultado, cada DC pode fazer contato com muitas células T ao longo do tempo, em até ~85 por minuto. Uma única célula T *naive* pode se mover ao longo da

rede de FRC em um linfonodo por até 24 horas e, portanto, se houver algumas DCs exibindo um antígeno particular em um linfonodo, uma célula T *naive específica* para esse antígeno que entra no nodo provavelmente encontrará uma dessas DCs. Imediatamente após o reconhecimento do antígeno em uma DC, a célula T interrompe sua movimentação e a interação com a DC é estabilizada, permitindo a ativação completa da célula T (Capítulo 9).

Saída das Células T dos Linfonodos

As células T* naive *que chegaram aos linfonodos, mas falharam em reconhecer o antígeno e não estão ativadas retornarão, eventualmente, à corrente sanguínea. Esse retorno ao sangue completa uma alça de recirculação e fornece às células T *naive* outra oportunidade de entrar nos órgãos linfoides secundários e procurar pelos antígenos que elas podem reconhecer. A principal rota de reentrada no sangue é através dos linfáticos eferentes, provavelmente via outros linfonodos da mesma cadeia, e então através da vasculatura linfática para o ducto torácico, o qual drena para a veia cava superior, ou para o ducto linfático direito, o qual drena para a veia subclávia direita, respectivamente.

A saída das células T* naive *dos linfonodos é dependente de um lipídeo quimioatraente denominado esfingosina 1-fosfato (S1P), o qual se liga a um receptor da família GPCR nas células T chamado de receptor 1 de esfingosina 1-fosfato (S1PR1) (Fig. 3.7). O S1P está presente em maiores concentrações no sangue e na linfa do que nos tecidos. Esse gradiente de concentração é mantido porque a enzima de degradação de S1P, S1P liase, está presente na maioria dos tecidos; assim, o lipídio é mais catabolizado nos tecidos do que na linfa e no sangue. O S1PR1 estimula a migração das células em direção ao gradiente de S1P. As células T *naive* circulantes têm muito pouco S1PR1 de superfície porque a alta concentração sanguínea de S1P causa internalização do receptor. Após a célula T *naive* entrar no linfonodo, onde as concentrações de S1P são baixas, o S1PR1 reaparece na superfície celular por um período de várias horas. Esse atraso permite que a célula T *naive* interaja com as células apresentadoras de antígeno. Depois que o receptor S1PR1 é expresso, a célula T deixa o linfonodo e é direcionada pelo gradiente de concentração de S1P para dentro do linfático eferente.

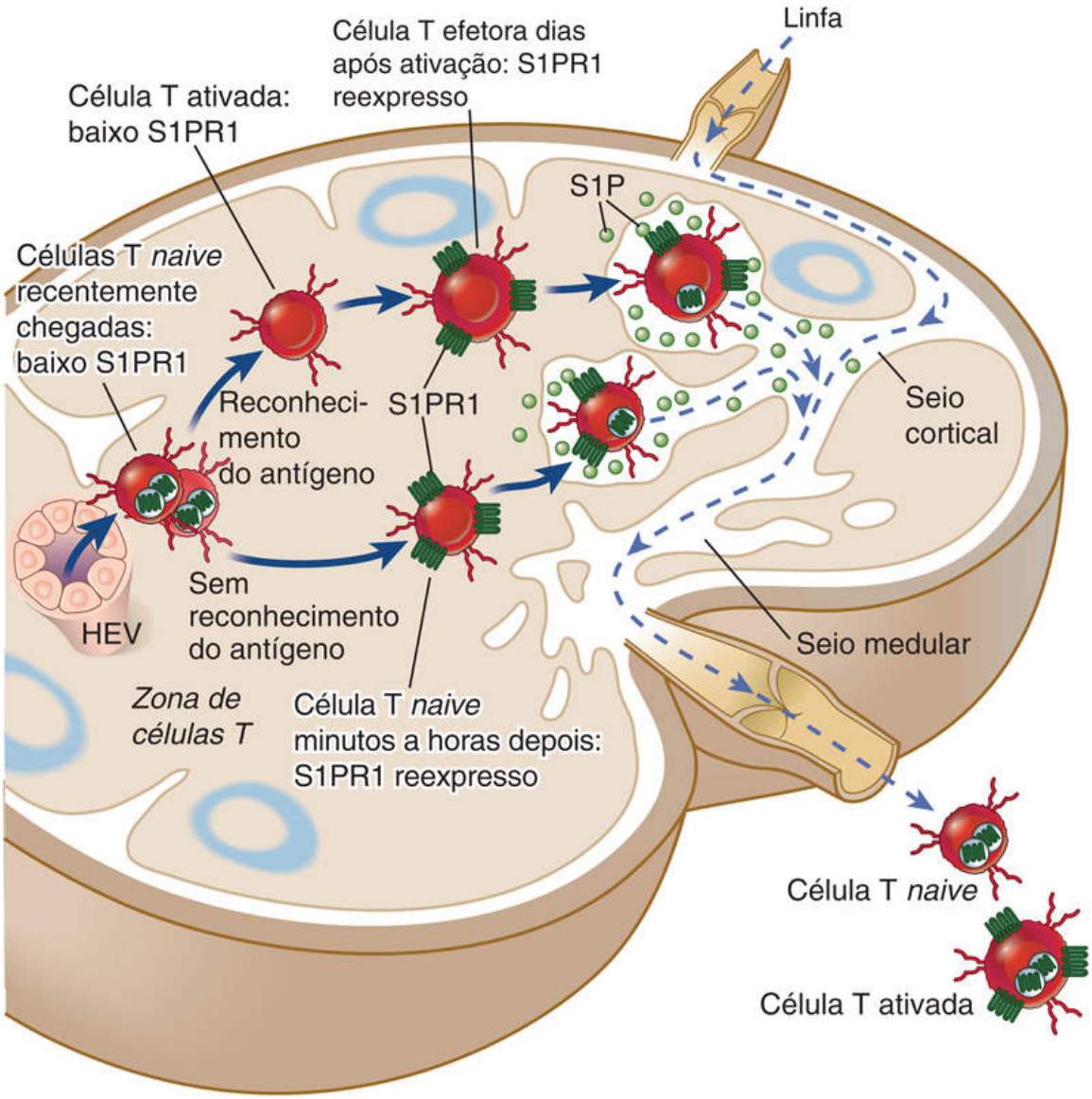


FIGURA 3.7 Mecanismo de saída dos linfócitos de órgãos linfoides.
S1P está presente em uma concentração relativamente alta no sangue e linfa e em baixas concentrações no interior dos tecidos linfoides. As células T *naive* circulantes apresentam baixos níveis de S1PR1 porque o receptor é internalizado após a ligação ao S1P no sangue. Dessa maneira, as células T *naive* que entraram recentemente no linfonodo não conseguem detectar o gradiente de concentração de S1P entre a zona de células T do nodo e a linfa no seio medular e linfáticos eferentes, portanto essas células T não podem sair do nodo. Após a ativação de uma célula T *naive* pelo antígeno, a expressão do S1PR1 na superfície celular é bloqueada por vários dias e as células ativadas também não deixarão o nodo. Após vários minutos a horas, para as células T *naive*, ou dias para as células T efetoras ativadas e diferenciadas, o S1PR1 é

reexpresso e essas células podem detectar o gradiente de S1P e sair do nodo.

Se uma célula T *naive* é ativada pelo antígeno no linfonodo, a expressão de S1PR1 na superfície celular é suprimida por vários dias, e dessa forma, a capacidade das células deixarem o órgão linfoide em resposta ao gradiente de S1P é retardada. Essa supressão de S1PR1 é controlada em parte por citocinas chamadas de interferons do tipo I que são produzidas durante as respostas imunes inatas às infecções, como discutiremos no Capítulo 4. Juntos, a estimulação antigênica e os interferons aumentam a expressão de uma proteína denominada CD69, a qual se liga ao S1PR1 intracelular e reduz sua expressão na superfície celular. Assim, a célula T ativada se torna transientemente insensível ao gradiente de S1P. Isso permite que as células T ativadas pelo antígeno permaneçam no órgão linfoide e sofram expansão clonal e diferenciação em células T efetoras, um processo que pode levar vários dias. Quando a diferenciação em células efetoras está completa, as células T perdem o CD69, passam a expressar o S1PR1 novamente na superfície celular e, assim, tornam-se responsivas ao gradiente de concentração de S1P e deixam o linfonodo via drenagem pelo seio medular em direção ao linfático eferente.

A S1P e o S1PR1 também são necessários para que a célula T *naive* madura deixe o timo e para a migração das células B derivadas de plasmablastos dos órgãos linfoides secundários.

Nossa compreensão sobre o papel de S1P e de S1PR1 no tráfego da célula T é baseada, em parte, em estudos com uma droga denominada fingolimod® (FTY720), que se liga ao S1PR1 causando sua modulação negativa na superfície da célula. O fingolimod® bloqueia a saída da célula T dos órgãos linfoides e, desse modo, age como uma droga imunossupressora. O fingolimod® está aprovado para o tratamento da esclerose múltipla, uma doença autoimune do sistema nervoso central e há grande interesse em seu uso, e de outras drogas com mecanismo de ação semelhante, para tratar várias doenças autoimunes e rejeição a enxertos. Evidências experimentais adicionais para o papel central do S1P no tráfego da célula T *naive* têm origem em estudos empregando camundongos com ablação genética do S1PR1. Nesses camundongos, há falha na saída das células T do timo e no povoamento dos órgãos linfoides secundários. Se as células T *naive* de camundongos *knockout* para S1PR1 são injetadas na circulação de outros camundongos, as células entram nos linfonodos, mas são incapazes de sair.

Recirculação de Células T através de Outros Tecidos Linfoides

O *homing* da célula T *naive* para os tecidos linfoides associados ao intestino, incluindo as placas de Peyer e os linfonodos mesentéricos, é fundamentalmente similar ao *homing* para outros linfonodos e depende das interações entre as células T e as HEVs. Como em outros tecidos, essas interações são mediadas por selectinas, integrinas e quimiocinas. Uma característica particular do *homing* da célula T *naive* para os linfonodos mensentéricos e placas de Peyer é a contribuição da molécula MadCAM-1 da superfamília de Ig, expressa nas HEVs nesses locais, mas não tipicamente em outros locais do corpo. Os dois ligantes de células T *naive* que se ligam a MadCAM-1, a L-selectina e a integrina $\alpha_4\beta_7$, contribuem ambos para o *homing* da célula T *naive* para dentro dos tecidos linfoides associados ao intestino.

A migração de células T *naive* para o baço através da polpa branca difere da migração para os linfonodos. Uma vez que não existem HEVs no baço, parece haver uma entrada não regulada de células T através da circulação aberta, sem a participação de selectinas, integrinas ou quimiocinas. As células T são então direcionadas para uma zona de células T na polpa branca por meio da ligação de quimiocinas ao CCR7. A taxa de linfócitos que passam através do baço é muito alta, aproximadamente a metade da população total de linfócitos circulantes a cada 24 horas. A saída de células T da polpa branca para a polpa vermelha e da circulação dependem de S1P e S1PR1.

Migração dos Linfócitos T Efetores para os Sítios de Infecção

As células T efetoras que foram geradas por ativação induzida pelo antígeno a partir de células T* naive *deixam os órgãos linfoides secundários através da drenagem linfática e retornam para o sangue. Muitas das funções antimicrobianas protetoras das células T efetoras podem ser realizadas nos sítios de infecção e, desse modo, essas células precisam ser capazes de deixar os órgãos linfoides. Durante a diferenciação dos linfócitos T *naive* em linfócitos efetores, essas células perdem a expressão de CCR7 e passam a expressar receptores para quimiocinas inflamatórias produzidas nos sítios de infecção. As células T também param de expressar a L-selectina e iniciam a expressão de ligantes para E- e P-selectinas. A expressão de S1PR1 é restaurada quando a

diferenciação em células efetoras está completa. Essas mudanças promovem a saída das células dos linfonodos em direção aos linfáticos. A partir dos linfáticos, as células T efetoras serão drenadas para o sangue e circularão por todo o corpo.

As células T efetoras circulantes chegam preferencialmente aos sítios de infecção no tecido periférico em vez dos tecidos linfoides devido a alterações na expressão das moléculas de adesão e dos receptores de quimiocina. O processo de *homing* do linfócito efetor para os tecidos infectados ocorre nas vênulas pós-capilares sendo mediado pelo mesmo processo de múltiplos passos dependente de selectina, integrina e quimiocina descrito para outros leucócitos. Assim como os neutrófilos e os monócitos, as células T efetoras presentes na circulação, mas não as células T *naive*, expressam ligantes para selectina, integrinas e receptores de quimiocinas, que se ligam, respectivamente, aos tipos de selectinas, ligantes de integrinas e quimiocinas que são expressas no endotélio ativado (Fig. 3.6).

A migração das células T efetoras para os tecidos infectados é independente do antígeno, porém as células efetoras que encontram o antígeno no tecido são preferencialmente retidas no local. Assim, células efetoras de diversas especificidades podem entrar nos sítios de infecção tecidual, o que maximiza a possibilidade das células encontrarem o antígeno para o qual são específicas. As integrinas das células T efetoras no tecido infectado são mantidas em seu estado de alta afinidade devido à ativação induzida pelo antígeno e à presença contínua de quimiocinas. Essas integrinas se ligam firmemente a proteínas da matriz extracelular, favorecendo a retenção das células T efetoras que reconhecem os antígenos nesses locais. A retenção permite que células T efetoras que reconhecem os antígenos executem as funções necessárias para eliminar os microrganismos e outras fontes de antígenos. A maioria das células efetoras que entra em um sítio de infecção eventualmente morre no local depois de desempenhar suas funções.

Algumas células efetoras têm uma propensão de migrar para tipos particulares de tecidos. Essa capacidade de migração seletiva é adquirida durante a diferenciação das células T efetoras a partir dos precursores *naive* nos órgãos linfoides secundários. Ao permitir que grupos distintos de células T efetoras migrem para locais diferentes, o sistema imune adaptativo direciona as células com funções efetoras especializadas para os locais onde elas são mais adequadas para lidar com tipos particulares de infecções. Os exemplos mais claros de populações de células T efetoras que são especificamente endereçadas a diferentes tecidos são as células T

que migram para a pele e para o intestino, cujos padrões de migração refletem a expressão de diferentes moléculas de adesão e receptores de quimiocinas em cada subpopulação, discutido em detalhes no Capítulo 14.

Existem diferentes subpopulações de células efetoras, cada qual com funções distintas, e essas subpopulações têm padrões diferentes, embora frequentemente com sobreposição dos padrões de migração. As células T efetoras incluem os linfócitos T citotóxicos $CD8^+$ e as células T auxiliares $CD4^+$. As células T auxiliares abrangem as subpopulações Th1, Th2 e Th17, cada qual expressando diferentes tipos de citocinas e protegendo contra diferentes tipos de microrganismos. As características e funções dessas subpopulações serão discutidas em detalhes no Capítulo 10. Por ora, é suficiente saber que a migração dessas subpopulações apresenta algumas diferenças. Isso ocorre porque o arranjo de receptores de quimiocinas e moléculas de adesão expressos por cada subpopulação difere de tal forma que resulta em recrutamento preferencial de cada subpopulação para os sítios inflamatórios elicitados por diferentes tipos de infecções.

Migração de Células T de Memória

As células T de memória são heterogêneas em seus padrões de expressão de moléculas de adesão e receptores de quimiocinas e em sua propensão em migrar para diferentes tecidos. Como as vias de identificação das células T de memória ainda são imperfeitas (Capítulos 2 e 9), a distinção entre as células T efetoras e de memória em estudos experimentais e em humanos geralmente não é precisa. Duas subpopulações de células T de memória, chamadas de células T de memória central e de células T de memória efetora, foram inicialmente identificadas com base nas diferenças da expressão de CCR7 e L-selectina. As células T de memória central foram definidas como células T sanguíneas $CD45RO^+$ que expressam altos níveis de CCR7 e L-selectina; as células T de memória efetora foram definidas como células T sanguíneas $CD45RO^+$ que expressam baixos níveis de CCR7 e L-selectina, mas expressam outros receptores de quimiocina que se ligam a quimiocinas inflamatórias. Esses fenótipos sugerem que as células T de memória central são endereçadas aos órgãos linfoides secundários, ao passo que as células T de memória efetora são endereçadas aos tecidos periféricos. Embora as populações de célula T de memória central e efetora também possam ser detectadas em camundongos, estudos experimentais indicaram que a expressão de CCR7 não é um marcador definitivo para distinguir essas subpopulações de célula T de memória. Todavia, está claro que algumas células T de memória tendem a se endereçar para os órgãos

linfoides secundários, ao passo que outras migram para os tecidos periféricos, especialmente pele e tecidos de mucosa. Além disso, após a chegada à pele ou mucosa, algumas células T de memória tornam-se células de memória residentes nos tecidos, permanecendo nesses tecidos indefinidamente. A retenção dessas células T residentes é mediada por moléculas de adesão, tais como CD103, e inibição da migração para os linfáticos pelo CD69. Em geral, as células T efetoras endereçadas para o tecido periférico e as células T de memória residentes no tecido respondem à estimulação antigênica produzindo citocinas efetoras rapidamente, ao passo que as células de memória central nos órgãos linfoides secundários tendem a proliferar mais, fornecendo um *pool* de células para respostas de memória.

Migração de Linfócitos B

As células B* naive *utilizam os mesmos mecanismos básicos que as células T* naive *para chegarem aos tecidos linfoides secundários de todo o corpo, o que garante sua probabilidade de responder aos antígenos microbianos em diferentes locais (Fig. 3.8). As células B imaturas deixam a medula óssea através do sangue, entram na polpa vermelha do baço pela zona marginal e migram para a periferia da polpa branca. À medida que passam por uma maturação adicional, as células B expressam o receptor de quimiocina CXCR5, que promove seus movimentos em direção a polpa branca em resposta a uma quimiocina denominada CXCL13. Uma vez que a maturação esteja completa dentro da polpa branca, as células B *naive* foliculares entram novamente na circulação por um processo dirigido por S1P e chegam aos linfonodos e tecidos linfoides de mucosa. O *homing* das células B *naive* do sangue para os linfonodos envolve interações de rolamento com as HEVs, ativação de integrinas pelas quimiocinas e retenção estável, conforme descrito anteriormente para as células T *naive*. Esse processo depende dos receptores de quimiocinas CCR7, CXCR4 e CXCR5 presentes nas células B *naive* e seus respectivos ligantes CCL19/CCL21, CXCL12 e CXCL13 expostos pelas HEVs, embora as contribuições das diferentes quimiocinas e receptores de quimiocinas possam ser parcialmente redundantes.

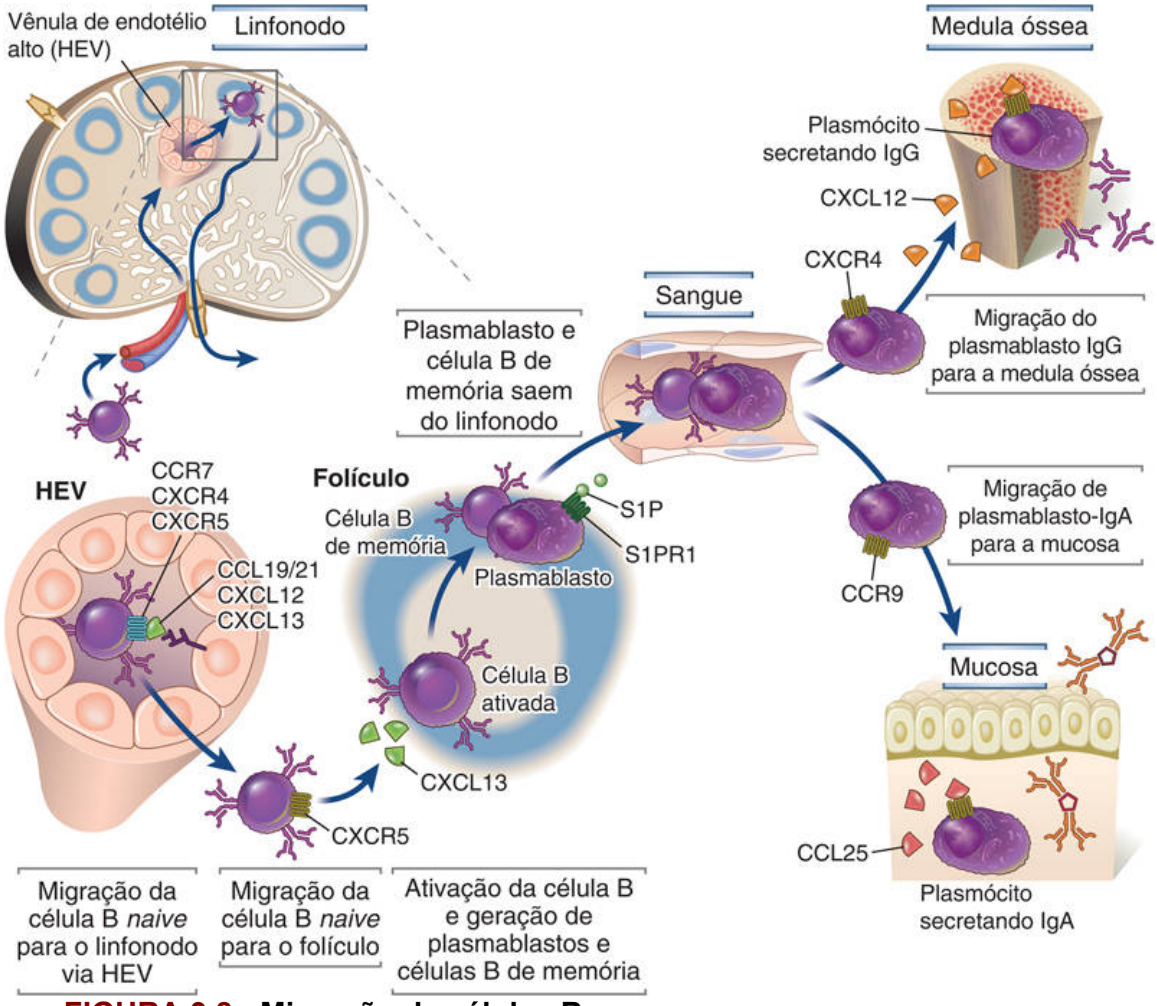


FIGURA 3.8 Migração de células B.
As células B *naive* entram nos linfonodos e nos tecidos linfoides associados à mucosa através da HEV, migram para os folículos, tornam-se ativadas e se diferenciam em células produtoras de anticorpos, algumas das quais são plasmablastos que entram na circulação e migram para a medula óssea ou para os tecidos de mucosa, onde se diferenciam em plasmócitos. Os plasmócitos secretores de IgG podem ser gerados em qualquer tecido linfoide. Os plasmócitos secretores de IgA são produzidos principalmente nos linfonodos mesentéricos ou nos tecidos linfoides associados à mucosa, e então retornam para os tecidos de mucosa. Outras células B que entram nos folículos se diferenciam em células B de memória, algumas das quais entram na circulação. Os receptores de quimiocinas e as quimiocinas envolvidos nesses passos são mostrados. As moléculas de adesão também estão envolvidas na migração para fora da HEV e dos vasos sanguíneos nos tecidos, como descrito no texto.

Assim que as células B *naive* recirculantes entram no estroma dos órgãos linfoides secundários, elas migram para os folículos, local onde elas podem encontrar o antígeno e se tornarem ativadas. Essa migração das células B *naive* para os folículos é mediada por CXCL13, produzido nos folículos pelas células estromais não hematopoiéticas, chamadas de células dendríticas foliculares (FDC, do inglês, *follicular dendritic cells*), e que se liga aos receptores CXCR5 nas células B *naive*. O CXCL13 é exposto nos condutos de FDC na zona de células T e nos condutos de FDC nos folículos, ambos servindo para guiar o movimento direcional das células B. O *homing* das células B *naive* para as placas de Peyer envolve o CXCR5 e a integrina $\alpha_4\beta_7$, a qual se liga a MadCAM-1. Durante o curso de respostas de células B aos antígenos proteicos, as células B e as células T auxiliares devem interagir diretamente e isso é possivel devido aos movimentos finamente regulados de ambos os tipos celulares dentro dos órgãos linfoides secundários. Esses eventos migratórios locais e as quimiocinas que os orquestram serão discutidos em detalhes no Capítulo 12.

A saída das células B dos órgãos linfoides secundários depende de S1P. Isso foi mostrado para plasmócitos diferenciados secretores de anticorpo nos linfonodos e no baço, que deixam os órgãos linfoides secundários nos quais foram gerados a partir de células B *naive* após ativação pelo antígeno e chegam à medula óssea ou sítios teciduais. As células B foliculares no baço migram para a zona marginal e então são carreadas pelo fluido através da polpa vermelha e daí para a circulação. Células B foliculares deficientes de S1PR1 têm capacidade reduzida em deixar o baço. Presumivelmente, as células B foliculares *naive* que entraram nos tecidos linfoides secundários, mas que não se tornaram ativadas pelos antígenos, entram novamente na circulação, assim como as células T o fazem, mas não é claro como este processo é controlado. As células B da zona marginal esplênica vão e voltam entre a zona marginal e os folículos, mas não retornam para a circulação em roedores. Em humanos, essas células circulam e também são encontradas circundando os folículos nos linfonodos.

As subpopulações de células B comprometidas com a produção de tipos particulares de anticorpos migram dos órgãos linfoides secundários para os tecidos específicos, onde se diferenciam em plasmócitos de vida longa (Fig. 3.8). Como descreveremos em capítulos posteriores, diferentes populações de plasmócitos secretam diferentes tipos de anticorpos, chamados de isotipos, cada um realizando um conjunto distinto de funções efetoras. Algumas células B ativadas que são geradas em órgãos linfoidos secundários e estão comprometidas com a secreção de um isotipo

particular de anticorpo se diferenciarão em células migratórias chamadas plasmablastos. Essas células entram na circulação e migram para a medula óssea ou tecidos de mucosa, onde elas se diferenciam adicionamente em plasmócitos e secretam anticorpos por longos períodos. A maioria dos plasmócitos residentes na medula óssea produz anticorpos IgG, os quais são então distribuídos por todo o corpo por meio da corrente sanguínea. As células B dentro dos tecidos linfoides associados à mucosa normalmente se tornam comprometidas com a expressão de anticorpo do isotipo IgA, e os plasmablastos produtores de IgA podem chegar especificamente aos tecidos de mucosa que recobrem o epitélio. A diferenciação local das células B em células secretoras de IgA dentro dos tecidos linfoides da mucosa, combinada com o *homing* dessas células para a mucosa, otimiza as defesas mediadas por IgA contra a invasão de microbiana através das barreiras de mucosa. Conforme discutiremos em mais detalhes no Capítulo 14, a IgA é eficientemente secretada para o lúmen dos tecidos revestidos pelo epitélio de mucosa, tais como o intestino e o trato respiratório.

Os mecanismos pelos quais diferentes populações de células B migram para os diversos tecidos são similares aos que descrevemos para a migração de células T efetoras para um tecido específico e dependem da expressão de distintas combinações de moléculas de adesão e receptores de quimiocinas em cada subpopulação de célula B. Por exemplo, os plasmócitos secretores de IgG que realizam o *homing* para a medula óssea expressam VLA-4 e CXCR4, que se ligam respectivamente a VCAM-1 e CXCL12, expressos nas células endoteliais sinusoidais da medula óssea. Em contraste, os plasmócitos secretores de IgA que realizam o *homing* para a mucosa expressam $\alpha_4\beta_7$ e CCR9, os quais se ligam respectivamente a MadCAM-1 e CCL25, nas células endoteliais da mucosa. As células B secretoras de IgG também são recrutadas para sítios inflamatórios crônicos em vários tecidos, e esse padrão de *homing* pode ser atribuído a VLA-4 e CXCR3 nessas células B e se ligam a VCAM-1, CXCL9 e CXCL10, frequentemente encontrados na superfície endotelial em sítios de inflamação crônica.

Resumo

- A migração dos leucócitos para os tecidos a partir do sangue ocorre através das vênulas pós-capilares e depende de moléculas de adesão expressas nos leucócitos e nas células endoteliais vasculares, bem como de quimiocinas.
- As selectinas são moléculas de adesão ligantes de carboidratos que medeiam a interação de baixa afinidade entre os leucócitos e as células endoteliais, o primeiro passo na migração de leucócitos do sangue para os tecidos. E-selectina e P-selectina são expressas nas células endoteliais ativadas por citocinas e se ligam aos ligantes de selectina nos leucócitos; a L-selectina é expressa em leucócitos e se liga aos ligantes em células endoteliais.
- As integrinas constituem uma grande família de moléculas de adesão, algumas das quais medeiam a firme adesão dos leucócitos ao endotélio ativado, um passo crítico na migração de leucócitos do sangue para os tecidos. Importantes quimiocinas dos leucócitos incluem LFA-1 e VLA-4, que se ligam a ICAM-1 e VCAM-1, respectivamente, nas células endoteliais. As quimiocinas e outros sinais nos sítios de infecção aumentam a afinidade das integrinas nos leucócitos e várias citocinas (TNF, IL-1) aumentam a expressão dos ligantes de integrina no endotélio.
- A migração de leucócitos para os tecidos a partir do sangue envolve uma série de interações sequenciais com as células endoteliais, começando com ligações de baixa afinidade dos leucócitos e seu rolamento ao longo da superfície endotelial (mediada pelas selectinas e ligantes de selectinas). Em seguida, as quimiocinas expostas nas células endoteliais ligam-se aos receptores de quimiocinas presentes nos leucócitos em rolamento, gerando sinais que aumentam a afinidade das quimiocinas dos leucócitos. Então, os leucócitos tornam-se firmemente ligados ao endotélio através de interações entre as integrinas e ligantes da superfamília de Ig presentes no endotélio. Finalmente, os leucócitos se movem através das junções celulares entre as células endoteliais e os tecidos.
- A recirculação dos linfócitos é um processo pelo qual linfócitos *naive* migram continuamente do sangue para os órgãos linfoides secundários através das HEVs, voltam ao sangue através dos

linfáticos e para outros órgãos linfoides secundários. Esse processo maximiza a chance da célula T ou B *naive* encontrar o antígeno que ela reconhece e é crítico para a iniciação das respostas imunes.

- As células B e T *naive* migram preferencialmente para os linfonodos; esse processo é mediado pela ligação da L-selectina nos linfócitos à adressina em HEVs dos linfonodos periféricos e pela ligação do receptor CCR7 nos linfócitos às quimiocinas CCL19 e CCL21, as quais são produzidas nos linfonodos.
- No interior das regiões perifoliculares dos linfonodos, as células T *naive* movem-se constantemente ao longo de uma rede de FRC, interagindo com as DCs ligadas às FRCs. Se uma célula T *naive* interage com uma DC exibindo o antígeno que ela é capaz de reconhecer, a célula T torna-se ativada para gerar células T efetoras e de memória. Se uma célula T *naive* não encontra o seu antígeno dentro de algumas horas, ela deixará o linfonodo através dos linfáticos eferentes por um processo dependente do S1PR nos linfócitos e um gradiente de S1P.
- As células B *naive* que entram nos tecidos linfoides secundários migram para os folículos em resposta a um gradiente da quimiocina CXCL13 que se liga aos receptores CXCR5 na célula B. No interior do folículo, as células B movem-se sobre uma rede reticular feita de células dendríticas foliculares (FDCs) e podem ligar-se a antígenos exibidos por outros tipos celulares no folículo.
- Os linfócitos efetores e de memória que são gerados pela estimulação antigênica das células *naive* saem do linfonodo por uma via dependente de S1P. As células T efetoras têm expressão reduzida de L-selectina e CCR7, mas expressão aumentada de integrinas e ligantes de E-selectina e P-selectina, e essas moléculas medeiam a ligação ao endotélio em sítios inflamatórios periféricos. Os linfócitos efetores e de memória também expressam receptores para quimiocinas que são produzidos em tecidos periféricos infectados.

Referências Sugeridas

Moléculas de Adesão

Hogg N, Patzak I, Willenbrock F. The insider's guide to leukocyte integrin signalling and function. *Nat Rev Immunol*. 2011;11:416–426.

Ley K, Laudanna C, Cybulsky MI, Nourshargh S. Getting to the site of inflammation: the leukocyte adhesion cascade updated. *Nat Rev Immunol*. 2007;7:678–689.

McEver RP. Selectins: initiators of leucocyte adhesion and signalling at the vascular wall. *Cardiovasc Res*. 2015;107:331–339.

Vestweber D. How leukocytes cross the vascular endothelium. *Nat Rev Immunol*. 2015;15:692–704.

Quimiocinas

Bromley SK, Mempel TR, Luster AD. Orchestrating the orchestrators: chemokines in control of T cell traffic. *Nat Immunol*. 2008;9:970–980.

Sallusto F, Baggiolini M. Chemokines and leukocyte traffic. *Nat Immunol*. 2008;9:949–952.

Vestweber D. How leukocytes cross the vascular endothelium. *Nat Rev Immunol*. 2015;15:692–704.

Zlotnik A, Yoshie O. The chemokine superfamily revisited. *Immunity*. 2012;36:705–716.

Migração de Linfócitos através dos Tecidos Linfoides

Baeyens A, Fang V, Chen C, Schwab SR. Exit strategies: S1P signaling and T cell migration. *Trends Immunol*. 2015;36:778–787.

Bajenoff M, Egen JG, Qi H, et al. Highways, byways and breadcrumbs: directing lymphocyte traffic in the lymph node. *Trends Immunol*. 2007;28:346–352.

Cyster JG, Schwab SR. Sphingosine-1-phosphate and lymphocyte egress from lymphoid organs. *Annu Rev Immunol*. 2012;30:69–94.

Qi H, Kastenmuller W, Germain RN. Spatiotemporal basis of innate and adaptive immunity in secondary lymphoid tissue. *Annu Rev Cell Dev Biol*. 2014;30:141–167.

Rot A, von Andrian UH. Chemokines in innate and adaptive host defense: basic chemokinese grammar for immune cells. *Annu Rev Immunol*. 2004;22:891–928.

Sigmundsdottir H, Butcher EC. Environmental cues, dendritic cells and the programming of tissue-selective lymphocyte trafficking. *Nat Immunol*. 2008;9:981–987.

Zhang Q, Lakkis FG. Memory T cell migration. *Front Immunol*. 2015;6:504.

Zlotnik A, Yoshie O. The chemokine superfamily revisited. *Immunity*. 2012;36:705–716.

CAPÍTULO 4

Imunidade Inata

VISÃO GERAL DA IMUNIDADE INATA
- Funções e Reações das Respostas Imunes Inatas
- Características Comparativas das Imunidades Inata e Adaptativa
- Evolução da Imunidade Inata

RECONHECIMENTO DE MICRORGANISMOS E DO PRÓPRIO DANIFICADO PELO SISTEMA IMUNE INATO

RECEPTORES DE RECONHECIMENTO DE PADRÃO ASSOCIADO À CÉLULA E SENSORES DE IMUNIDADE INATA
- Receptores do tipo *Toll*
- Receptores Citosólicos para Padrões Moleculares Associados ao Patógeno e Padrões Moleculares Associados ao Dano
- Outros Receptores de Reconhecimento de Padrão Associado à Célula

COMPONENTES CELULARES DO SISTEMA IMUNE INATO
- Barreiras Epiteliais
- Fagócitos
- Células Dendríticas
- Células Linfoides Inatas Produtoras de Citocinas
- Linfócitos T e B com Diversidade Limitada de Receptor Antigênico
- Mastócitos

MOLÉCULAS EFETORAS SOLÚVEIS DE IMUNIDADE INATA
- O Sistema Complemento
- Pentraxinas
- Colectinas e Ficolinas

A RESPOSTA INFLAMATÓRIA
- Principais Citocinas Pró-inflamatórias da Imunidade Inata
- Recrutamento de Leucócitos para Sítios de Infecção
- Ingesta e *Killing* de Microrganismos por Fagócitos Ativados
- Consequências Sistêmicas e Patológicas da Inflamação

A RESPOSTA ANTIVIRAL

ESTIMULAÇÃO DA IMUNIDADE ADAPTATIVA

MECANISMOS QUE LIMITAM AS RESPOSTAS IMUNES INATAS

RESUMO

Visão Geral da Imunidade Inata

O termo *imunidade inata* se refere aos mecanismos de defesa sempre presentes, prontos para combater microrganismos e outros agentes agressores. O sistema imune inato, introduzido no Capítulo 1, consiste em muitos tipos de células e moléculas solúveis presentes nos tecidos e no sangue que previnem constantemente a invasão e o estabelecimento de infecções. Quando um microrganismo estabelece o foco infeccioso, as respostas imunes inatas fornecem a defesa inicial, antes das respostas imunes adaptativas (Fig. 1.1). No presente capítulo, descreveremos de forma mais detalhada os componentes, especificidade e mecanismos antimicrobianos da imunidade inata. Embora o foco de grande parte dos capítulos subsequentes seja o papel da resposta imune adaptativa na defesa do hospedeiro e na doença, ao longo de todo o livro também serão apontados o impacto do sistema imune inato sobre as respostas imunes adaptativas e o modo como o sistema imune inato contribui para a proteção contra as infecções.

Funções e Reações das Respostas Imunes Inatas

A imunidade inata exerce várias funções essenciais que nos protegem contra microrganismos e lesão tecidual. Os principais componentes do sistema imune inato são as superfícies epiteliais, que bloqueiam a entrada dos microrganismos; as células-sentinela teciduais, incluindo macrófagos, células dendríticas e mastócitos, os quais detectam microrganismos que conseguem romper os epitélios e iniciam as respostas do hospedeiro; as células brancas do sangue (leucócitos), incluindo neutrófilos, macrófagos derivados de monócitos, células *natural killer* e outras células, que entram nos tecidos vindas do sangue e eliminam os microrganismos que invadiram os epitélios, além de se livrarem das células danificadas do hospedeiro; e diversos tipos de proteínas plasmáticas, as quais combatem os microrganismos que entraram na circulação. As funções de cada um desses componentes é discutida mais adiante, neste capítulo. Numerosos outros tipos celulares, entre os quais as células epiteliais e outras células teciduais, também contam com mecanismos intrínsecos para se autodefender contra os microrganismos.

As funções das respostas imunes inatas têm algumas características gerais importantes.

- ***O sistema imune inato mantém defesas físicas e químicas nas barreiras epiteliais, como a pele e o revestimento dos tratos gastrintestinal e respiratório, os quais bloqueiam a entrada microbiana.*** Os microrganismos conseguem colonizar os tecidos somente quando são capazes de atravessar os epitélios. Se essas barreiras forem danificadas ou os microrganismos conseguirem penetrá-las, as respostas imunes inata e adaptativa são ativadas para fornecer as próximas linhas de defesa.
- ***As respostas imunes inatas são as reações iniciais aos microrganismos que servem para prevenir, controlar ou eliminar a infecção do hospedeiro por muitos patógenos.*** A importância da imunidade inata na defesa do hospedeiro é ilustrada por observações clínicas e estudos experimentais demonstrando que as deficiências, inibição ou eliminação de qualquer dos vários mecanismos de imunidade inata aumentam a suscetibilidade a infecções, mesmo quando o sistema imune adaptativo está intacto e funcional. Muitos microrganismos patogênicos desenvolveram estratégias para resistir à imunidade inata, e essas estratégias são decisivas para a virulência dos microrganismos. As respostas imunes inatas a esses microrganismos pode manter a infecção sob controle até as respostas imunes adaptativas serem ativadas. As respostas imunes adaptativas tipicamente são mais potentes e especializadas, conseguindo assim eliminar os microrganismos que resistem aos mecanismos de defesa da imunidade inata.
- **A imunidade inata elimina células danificadas e inicia o processo de reparo tecidual.** Essas funções envolvem o reconhecimento e a resposta a moléculas do hospedeiro produzidas, liberadas ou acumuladas em células estressadas, danificadas e mortas do hospedeiro. A lesão que deflagra essas respostas inatas pode ocorrer como resultado de infecção, ou é possível que se trate de um dano tecidual e celular estéril na ausência de infecção.
- ***As respostas imunes inatas estimulam respostas imunes adaptativas e podem influenciar a natureza dessas respostas, para torná-las otimamente efetivas contra diferentes tipos de microrganismos.*** Portanto, a imunidade inata não só desempenha funções defensivas logo após a infecção como também fornece os sinais de perigo que alertam o sistema imune adaptativo para responder. Além disso, diferentes componentes do sistema imune inato muitas vezes

reagem de modos distintos a microrganismos diferentes (p. ex.:bactérias extracelulares *versus* vírus intracelulares) e, assim, influenciam o tipo de resposta imune adaptativa que se desenvolve. Retomaremos esse conceito ao final do capítulo.

- ***Os dois tipos principais de reações protetoras do sistema imune inato são a inflamação e a defesa antiviral.*** A inflamação é o processo pelo qual leucócitos circulantes e proteínas plasmáticas são levados aos sítios de infecção nos tecidos e são ativados para destruir e eliminar os agentes agressores. A inflamação também é a principal reação a células danificadas ou mortas, bem como aos acúmulos de substâncias anormais nas células e tecidos. Os mecanismos de defesa antivirais previnem a replicação viral e promovem o *killing* (destruição) de células infectadas, eliminando assim os reservatórios de infecção viral na ausência de uma reação inflamatória (ainda que a inflamação também possa contribuir para a defesa contra vírus).

Características Comparativas das Imunidades Inata e Adaptativa

Para entender como as imunidades inata e adaptativa complementam uma a outra para conferir proteção contra patógenos, é instrutivo destacar suas diferenças relevantes.

- As respostas imunes inatas a um microrganismo são imediatas e dispensam exposição prévia ao microrganismo. Em outras palavras, as moléculas e células efetoras imunes inatas são totalmente funcionais até mesmo antes da infecção ou são rapidamente ativadas pelos microrganismos para prevenir, controlar ou eliminar as infecções. Em contraste, as respostas imunes adaptativas efetivas a um microrganismo recém-introduzido se desenvolvem no decorrer de vários dias, à medida que os clones de linfócitos antígeno-específicos se expandem e se diferenciam em células efetoras funcionais.
- Para a maioria das respostas inatas aos microrganismos, não há alteração considerável na qualidade ou magnitude da resposta após repetidas exposições — ou seja, há pouca ou nenhuma memória. Em contraste, a exposição repetida a um microrganismo intensifica a rapidez, a magnitude e a efetividade das respostas imunes adaptativas. Podem haver algumas exceções à regra de que não há memória na imunidade inata. Por exemplo, a magnitude das respostas de células *natural killer* a certas infecções virais são aumentadas com a exposição subsequente ao mesmo vírus. Ainda não está claro o grau de especificidade dessas respostas intensificadas, quais e quantos vírus conseguem deflagrá-las, ou se essas respostas contribuem para uma proteção aumentada contra infecções repetidas.
- A resposta imune inata é ativada pelo reconhecimento de um conjunto relativamente limitado de estruturas moleculares que são produtos de microrganismos ou são expressas por células lesadas ou mortas do hospedeiro. Estima-se que o sistema imune inato reconheça apenas cerca de 1.000 produtos de microrganismos e células danificadas. Em contraste, o sistema imune adaptativo consegue reconhecer milhões de antígenos microbianos diferentes, além de também poder reconhecer antígenos ambientais não microbianos e autoantígenos normalmente presentes nos tecidos sadios.
- Os receptores usados pelos sistemas imunes inato e adaptativo são fundamentalmente diferentes em termos de estrutura e extensão da variação, o que explica as diferentes especificidades desses dois tipos de defesa do hospedeiro. Os receptores da imunidade inata são detalhados adiante, neste mesmo capítulo, e os receptores da imunidade adaptativa são descritos em capítulos subsequentes.

Evolução da Imunidade Inata

A imunidade inata, primeira linha de defesa contra infecções, é filogeneticamente a parte mais antiga do sistema imune. Coevoluiu com os microrganismos para proteger todos os organismos multicelulares contra infecções. Alguns componentes do sistema imune inato dos mamíferos são notavelmente similares a componentes encontrados em plantas e insetos, sugerindo seu aparecimento em ancestrais comuns há muito tempo, no decorrer da evolução. Exemplificando, peptídeos tóxicos a bactérias e fungos, chamados defensinas, são encontrados em plantas e mamíferos, e compartilham essencialmente a mesma estrutura terciária em ambas as formas de vida. Uma família de receptores que discutiremos em detalhes mais adiante, chamada receptores do tipo *Toll*, reconhecem microrganismos patogênicos e

ativam os mecanismos de defesa antimicrobiana. Os receptores do tipo *Toll* são encontrados em todas as formas de vida na árvore evolutiva, desde os insetos até os mamíferos. A principal via transdutora de sinal que os receptores do tipo *Toll* engajam para ativar células, chamada via do NFκB em mamíferos, também apresenta uma notável conservação evolutiva. De fato, a maioria dos mecanismos de defesa imune inata que discutiremos neste capítulo surgiu muito cedo na evolução, quando os primeiros organismos multicelulares evoluíram, há cerca de 750 milhões de anos. Um sistema imune adaptativo, em contraste, é nitidamente reconhecível apenas em vertebrados, que surgiram há cerca de 350-500 milhões de anos.

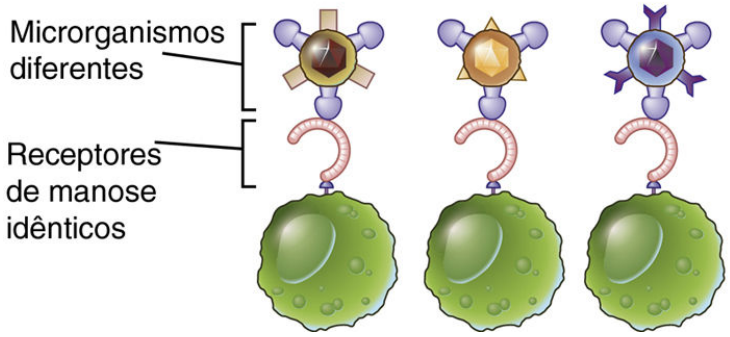
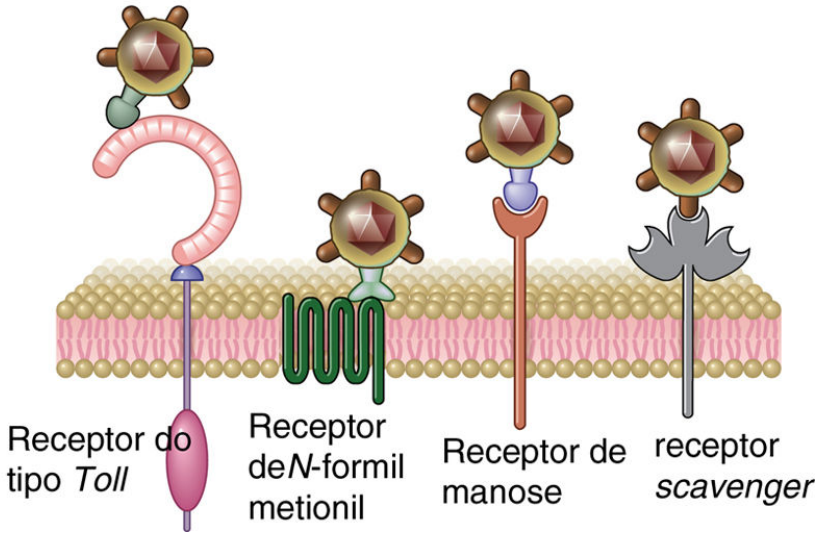
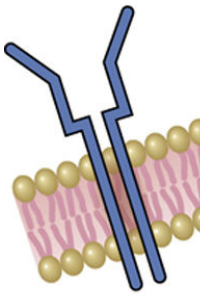
Começamos a nossa discussão sobre o sistema imune inato descrevendo como ele reconhece microrganismos e células danificadas do hospedeiro. Em seguida, seguiremos para os componentes individuais da imunidade inata e suas funções na defesa do hospedeiro.

Reconhecimento de Microrganismos e do Próprio Danificado pelo Sistema Imune Inato

As especificidades do reconhecimento imune inato evoluíram para combater os microrganismos, e diferem das especificidades do sistema imune adaptativo com relação a vários aspectos (Tabela 4.1).

Tabela 4.1

Especificidade das Imunidades Inata e Adaptativa

	Imunidade Inata	Imunidade Adaptativ
Especificidade	Para estruturas compartilhadas por classes de microrganismos (padrões moleculares associados ao patógeno) 	Para detal microbia antígenos Microrgani mos diferentes Moléculas de anticorp distintas
Número de moléculas microbianas reconhecidas	Cerca de 1.000 padrões moleculares (estimativa)	>10^7 antígenos
Receptores	Codificado na linhagem germinativa; diversidade limitada (receptores de reconhecimento de padrão) 	Codificad recomb segmen diversid 

	Imunidade Inata	Imunidade Adaptati
Número e tipos de receptores	<100 tipos diferentes de receptores invariáveis	Apenas dois tipos de
Distribuição dos receptores	Não clonal: receptores idênticos em todas as células da mesma linhagem	Clonal: clones de linf
Genes codificadores de receptores	Codificação na linhagem germinativa, em todas as células	Formados por recomb
Discriminação de próprio e não próprio	Sim; as células sadias do hospedeiro não são reconhecidas ou podem expressar moléculas que previnem reações imunes inatas	Sim; com base na elim (originando autoi

Ig, Imunoglobulina; *TCR*, receptor antigênico da célula T.

O sistema imune inato reconhece estruturas moleculares produzidas por patógenos microbianos. As substâncias microbianas que estimulam a imunidade inata são frequentemente compartilhadas por classes de microrganismos, e são chamadas **padrões moleculares associados ao patógeno (PAMPs, do inglês, *pathogen-associated molecular patterns*)**. Diferentes tipos de microrganismos (p. ex.: vírus, bactérias Gram-negativas, bactérias Gram-positivas, fungos) expressam PAMPs diferentes (Tabela 4.2). Essas estruturas incluem ácidos nucleicos que são exclusivos ou mais abundantes em microrganismos do que nas células do hospedeiro, como o RNA de fita dupla encontrado em vírus replicantes e as sequências CpG de DNA não metiladas encontradas em bactérias; características de proteínas encontradas em microrganismos, como a iniciação por *N*-formilmetionina, que é típica de proteínas bacterianas; e carboidratos e lipídeos complexos sintetizados por microrganismos e não pelas células de mamíferos, como o lipopolissacarídeo (LPS) em bactérias Gram-negativas, o ácido lipoteicoico em bactérias Gram-positivas, e oligossacarídeos com resíduos de manose terminais encontrados em glicoproteínas microbianas, mas não de mamíferos. Embora o sistema imune inato tenha evoluído para reconhecer apenas um número limitado de moléculas que são típicas de classes diferentes de microrganismos, o sistema imune adaptativo é capaz de reconhecer um número e uma diversidade muito maiores de substâncias estranhas (antígenos), as quais podem ser exclusivas de espécies microbianas individuais distintas e também podem ser de origem não microbiana.

Tabela 4.2

Exemplos de Padrões Moleculares Associados ao Patógeno e de Padrões Moleculares Associados ao Dano

		Tipo de Microrganismo
Padrões Moleculares Associados ao Patógeno		
Ácidos nucleicos	ssRNA dsRNA CpG	Vírus Vírus Vírus, bactérias
Proteínas	Pilina Flagelina	Bactérias Bactérias
Lipídeos da parede celular	LPS Ácido lipoteicoico	Bactérias Gram-negativa Bactérias Gram-positiva
Carboidratos	Manana Glucanas	Fungos, bactérias Fungos
Padrões Moleculares Associados ao Dano		
Proteínas induzidas pelo estresse	HSPs	—
Cristais	Urato monossódico	—
Matriz extracelular proteoliticamente clivada	Peptídeos de proteoglicanas	—
Mitocôndria e componentes mitocondriais	Peptídeos formilados e ATP	—
Proteínas nucleares	HMGB1, histonas	—

ATP, trifosfato de adenosina; *CpG*, oligonucleotídeo rico em citosina-guanina; *dsRNA*, RNA de dupla fita; *HMGB1*, proteína de altamobilidade do grupo *box* 1; *HSP*, proteína de choque térmico; *LPS*, lipopolissacarídeo; *ssRNA*, RNA de fita simples.

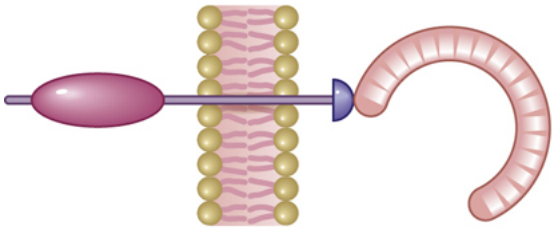
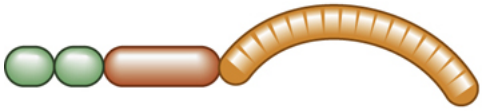
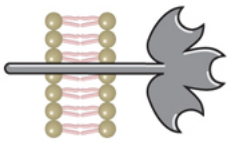
O sistema imune inato reconhece produtos microbianos que são normalmente essenciais à sobrevivência dos microrganismos. Essa adaptação evolutiva do reconhecimento da imunidade inata é importante porque garante que os microrganismos não consigam evadir a imunidade inata pela perda mutacional de moléculas reconhecidas pelo hospedeiro. Um exemplo de alvo da imunidade inata indispensável aos microrganismos é o RNA viral de dupla fita, que é um intermediário essencial no ciclo de vida de muitos vírus. Similarmente, o LPS e o ácido lipoteicoico são componentes estruturais de paredes celulares bacterianas reconhecidos por receptores da imunidade inata; ambos são requeridos para a sobrevivência bacteriana. Em contraste, como veremos no Capítulo 16, os microrganismos podem sofrer mutação ou perder muitos dos antígenos que são reconhecidos pelo sistema imune adaptativo, o que possibilita a evasão da defesa do hospedeiro sem comprometimento de sua própria sobrevivência.

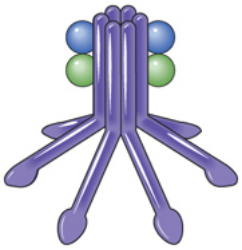
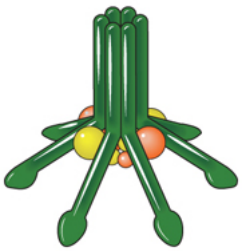
O sistema imune inato também reconhece moléculas endógenas que são produzidas ou liberadas por células danificadas ou que estão morrendo. Essas substâncias são chamadas **padrões moleculares associados ao dano (DAMPs, do inglês, *damage-associated molecular patterns*)** (Tabela 4.2). Os DAMPs podem ser produzidos como resultado de dano celular causado por infecções, mas também podem indicar lesão estéril causada por uma dentre inúmeras possibilidades, como toxinas químicas, queimaduras, traumatismo ou perda do suprimento sanguíneo. Os DAMPs geralmente não são liberados pelas células em processo de morte por apoptose. Em alguns casos, moléculas endógenas produzidas por células sadias são liberadas quando ocorre dano celular e, então, estimulam respostas inatas. Essas moléculas são um subconjunto de DAMPs e muitas vezes recebem o nome de **alarminas**, porque sua presença fora das células alerta o sistema imune de que algo está causando morte celular.

O sistema imune inato usa vários tipos de receptores celulares, presentes em diferentes locais nas células, e moléculas solúveis presentes no sangue e nas secreções de mucosas, para reconhecer PAMPs e DAMPs (Tabela 4.3). Moléculas de reconhecimento célula-associadas do sistema imune inato são expressas por fagócitos (primariamente macrófagos e neutrófilos), células dendríticas (DCs, do inglês, *dendritic cells*), células epiteliais que formam a interface da barreira entre o corpo e o ambiente externo, mastócitos e muitos outros tipos de células que residem nos tecidos. Os receptores celulares de padrões moleculares associados ao patógeno e ao dano também são denominados **receptores de reconhecimento de padrão**. Esses receptores são expressos na superfície, em vesículas fagocíticas e no citosol de vários tipos celulares — todas localizações onde microrganismos podem estar presentes (Fig. 4.1). Quando esses receptores de reconhecimento de padrão célula-associados se ligam aos PAMPs e DAMPs, ativam vias de transdução de sinal que promovem as funções antimicrobianas e pró-inflamatórias das células que os expressam. Adicionalmente, há muitas proteínas presentes no sangue e nos fluidos extracelulares que reconhecem PAMPs (Tabela 4.3). Essas moléculas solúveis são responsáveis pela facilitação da depuração de microrganismos do sangue e dos fluidos extracelulares, por meio da intensificação da captação para dentro dos fagócitos ou pela ativação de mecanismos de *killing* extracelular.

Tabela 4.3

Moléculas de Reconhecimento de Padrão do Sistema Imune Inato

Receptores de Reconhecimento de Padrão	Localização	Exemplos Específicos
Associados à Célula		
TLRs 	Membrana plasmática e membranas endossômicas de DCs, fagócitos, células B, células endoteliais e muitos outros tipos celulares	TLRs 1-9
NLRs 	Citosol de fagócitos, células epiteliais e outras células	NOD1/2 Família NLRP (inflamassomos
RLRs	Citosol de fagócitos e outras células	RIG-1, MDA-5
CDSs	Citosol de muitos tipos celulares	AIM2; CDSs associado a STING
CLRs	Membranas plasmáticas de fagócitos	Receptor de manose *DC-sign* Dectinas-1 e -2
Receptores Scavenger 	Membranas plasmáticas de fagócitos	CD36

Receptores de Reconhecimento de Padrão	Localização	Exemplos Específicos
Receptores de *N*-formil-met-leu-phe	Membranas plasmáticas de fagócitos	FPR e FPRL1
Solúveis		
Pentraxinas	Plasma	Proteína C reativa
Colectinas 	Plasma Alvéolos	Lectina ligante de manose Proteínas surfactantes SP A e SP-D
Ficolinas 	Plasma	Ficolina
Complemento	Plasma	Várias proteínas do complemento

AIM2, ausente no melanoma; *CDSs*, sensores de DNA citosólicos; *CLRs*, receptores lectina tipo C; *DAMP*, padrão molecular associado ao dano; *DC*, células dendríticas; *MDA*, gene associado à diferenciação do melanoma; *NLRs*, receptores do tipo

NOD; *NOD*, domínio de oligomerização de nucleotídeo; *PAMP*, padrão molecular associado ao patógeno; *RLRs*, receptores do tipo RIG; *SP-D*, proteína surfactante D; *STING*, estimulador de genes de IFN; *TLRs*, receptores do tipo *Toll*.

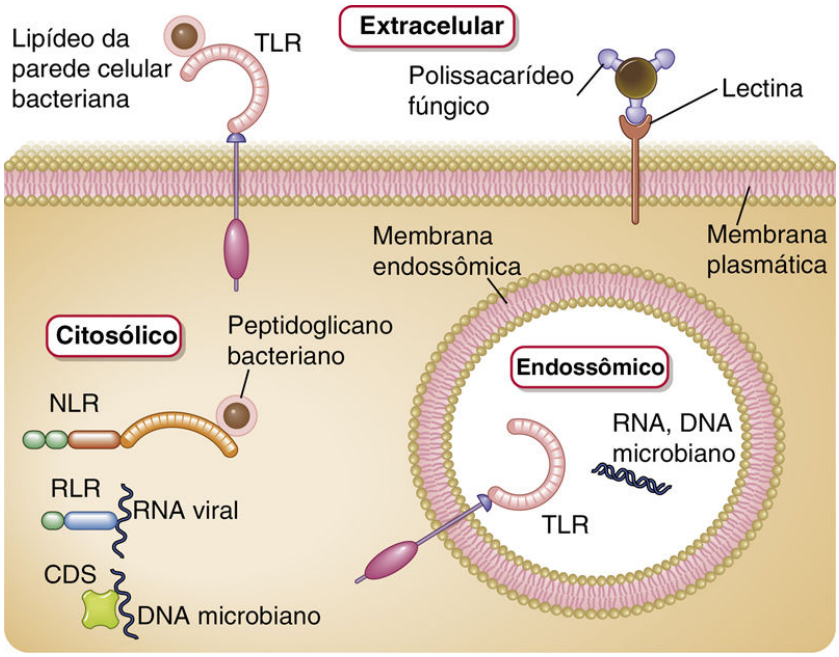


FIGURA 4.1 Localizações celulares de receptores de reconhecimento de padrão do sistema imune inato.
Algumas moléculas de reconhecimento de padrão, incluindo membros da família TLR (Fig. 4.2) e receptores lectina, são expressos na superfície celular, onde podem se ligar a padrões moleculares associados ao patógeno extracelulares. Outros TLRs são expressos nas membranas endossômicas e reconhecem ácidos nucleicos de microrganismos que foram fagocitados por células. As células também contêm sensores citosólicos de infecção microbiana, incluindo NLRs, RLRs e CDS. Apenas exemplos selecionados de PAMPs microbianos reconhecidos por esses receptores são mostrados. Os receptores citosólicos que reconhecem produtos de células danificadas (DAMPs), bem como alguns microrganismos, são mostrados na Fig. 4.4. *CDS*, sensor de DNA citosólico; *NLR*, receptor do tipo NOD; *RLR*, receptor do tipo RIG; *TLR*, receptor do tipo *Toll*.

Os receptores do sistema imune inato são codificados por genes herdados (linhagem germinativa), enquanto os genes codificadores dos receptores de imunidade adaptativa são gerados por recombinação somática de segmentos gênicos nos precursores dos linfócitos maduros. Como resultado, a diversidade de receptores do sistema imune inato e a gama de suas especificidades são pequenas em comparação com aquelas observadas em células B e T do sistema imune adaptativo. Estima-se que o reconhecimento imune inato seja mediado por cerca de 100 receptores distintos pertencentes a poucas famílias de proteínas, enquanto no sistema imune adaptativo há apenas duas famílias de receptores (imunoglobulinas e receptores de células T) que produzem milhões de variações que reconhecem um vasto número de antígenos. Em adição, enquanto o sistema imune adaptativo pode distinguir entre antígenos de diferentes microrganismos da mesma classe e até antígenos distintos de um único microrganismo, a imunidade inata consegue distinguir apenas classes de microrganismos, ou somente entre células danificadas e células sadias, mas não reconhece espécies particulares de microrganismos ou tipos celulares.

O sistema imune inato não reage contra células e tecidos sadios normais. Essa característica é, sem dúvida, essencial para a saúde do organismo. A falha em reconhecer o próprio sadio é devido a três mecanismos principais: células normais não produzem ligantes para receptores de imunidade inata; esses receptores estão localizados em compartimentos celulares onde não encontram moléculas do hospedeiro que poderiam reconhecer; e as proteínas reguladoras expressas por células normais previnem a ativação de vários componentes de imunidade inata. Discutiremos exemplos desse tipo de regulação adiante, neste mesmo capítulo.

Com esta introdução, podemos prosseguir para uma discussão sobre a ampla variedade de moléculas existentes no corpo capazes de reconhecer PAMPs e DAMPs, enfocando suas especificidades, localizações e funções. Começaremos com as moléculas célula-associadas expressas nas membranas ou no citosol celular. As moléculas efetoras e de reconhecimento solúveis da imunidade inata, encontradas no sangue e nos fluidos extracelulares, são descritas posteriormente.

Receptores de Reconhecimento de Padrão Associado a Célula e Sensores de Imunidade Inata

A maioria dos tipos celulares expressa receptores de reconhecimento de padrão e, portanto, é capaz de participar das respostas imunes inatas. Os fagócitos, especialmente os macrófagos e as DCs expressam a maior variedade e quantidade destes receptores. Isso é condizente com o papel fundamental dos fagócitos na detecção de microrganismos e células danificadas, bem como em sua ingesta para destruição, e com o papel das DCs na reação aos microrganismos de forma a deflagrar inflamação e a imunidade adaptativa subsequente. Os receptores de reconhecimento de padrão estão ligados a vias de transdução de sinal intracelulares que ativam várias respostas celulares, incluindo a produção de moléculas promotoras de inflamação e moléculas que destroem microrganismos.

Organizaremos nossa discussão em torno de várias classes distintas de receptores celulares de reconhecimento de padrão que diferem quanto à estrutura e especificidade para diversos tipos de microrganismos.

Receptores do Tipo *Toll*

Os receptores do tipo* Toll *(TLRs, do inglês,* Toll-like receptors*) constituem uma família evolutivamente conservada de receptores de reconhecimento de padrão expressos em muitos tipos celulares, que reconhecem produtos de uma ampla gama de microrganismos, bem como moléculas expressas ou liberadas por células estressadas e em processo de morte. O *Toll* foi descoberto como um gene de *Drosophila* envolvido no estabelecimento do eixo dorsoventral durante o desenvolvimento da mosca das frutas. Subsequentemente, porém, foi descoberto que a proteína *Toll* também mediava respostas antimicrobianas nesses organismos. Além disso, descobriu-se que o domínio citoplasmático de *Toll* era similar à região citoplasmática do receptor para acitocina da imunidade inata chamada interleucina-1 (IL-1). Essas descobertas levaram à identificação de homólogos de *Toll* em mamíferos, os quais foram nomeados receptores do tipo *Toll*. Existem nove TLRs funcionais diferentes em seres humanos, denominados TLR1 a TLR9 (Fig. 4.2).

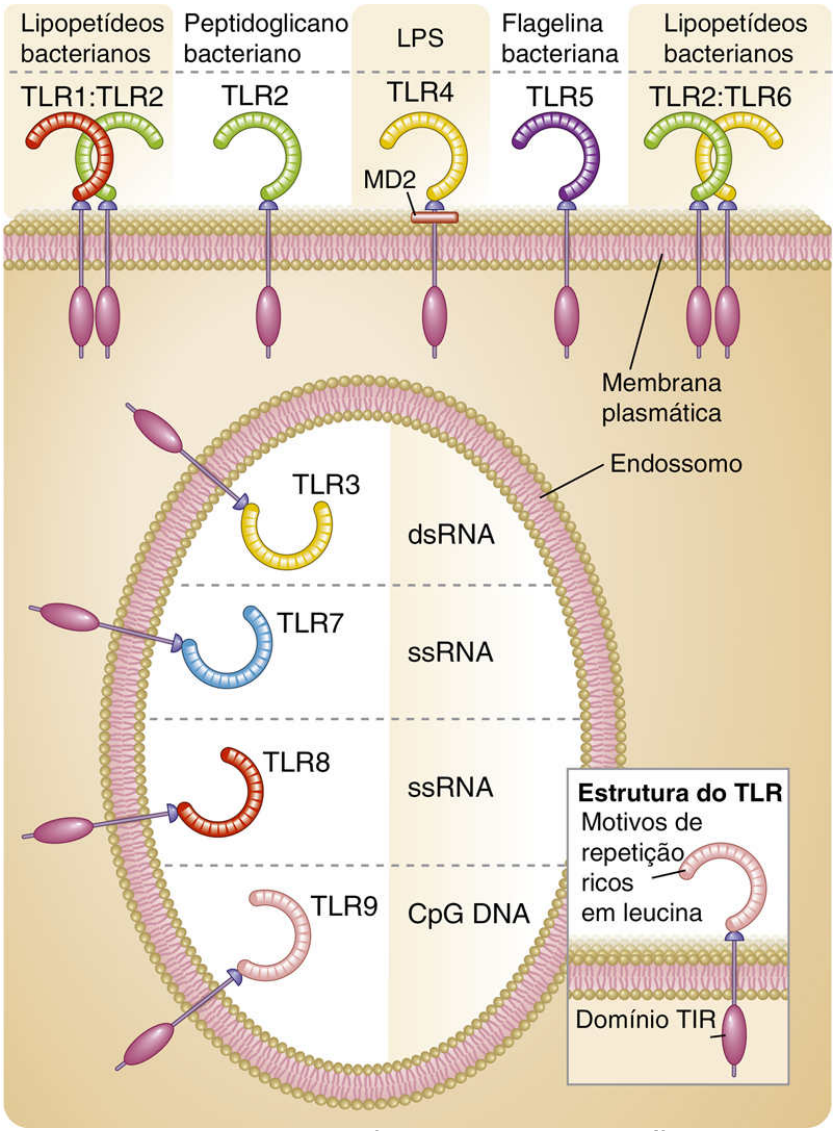


FIGURA 4.2 Estrutura, localização e especificidades de TLRs de mamíferos.
Note que alguns TLRs são expressos na superfície celular, e outros, nos endossomos. Os TLRs podem formar homodímeros ou heterodímeros. *TIR*, receptor *Toll*/IL-1; *LPS*, lipopolisacarídeo; *dsRNA*, RNA de dupla fita; *ssRNA*, RNA de fita simples.

Os TLRs são glicoproteínas integrais de membrana do tipo I que contêm repetições ricas em leucina flanqueadas por motivos ricos em cisteína característicos em suas regiões extracelulares, os quais estão envolvidos na ligação ao ligante, bem como um domínio receptor *Toll*/IL-1 (TIR, do inglês, *Toll/IL-1 receptor*) em suas caudas citoplasmáticas, o qual é essencial à sinalização. Os domínios TIR também são encontrados nas caudas citoplasmáticas dos receptores para as citocinas IL-1 e IL-18, de modo que vias de sinalização similares são engajadas pelos TLRs, IL-1 e IL18.

Os* TLRs *de mamíferos estão envolvidos nas respostas a uma ampla variedade de moléculas expressas por microrganismos e não pelas células de mamíferos sadias. Os ligantes reconhecidos por TLRs diferentes são estruturalmente diversos e incluem produtos de todas as classes de microrganismos (Fig. 4.2). Alguns exemplos de produtos bacterianos que se ligam aos TLRs são os constituintes da parede celular bacteriana LPS e ácido lipoteicoico, já mencionados, e a flagelina, uma subunidade proteica componente dos flagelos de bactérias móveis. Exemplos de ácidos nucleicos que são ligantes de TLR são os RNA de fita dupla (dsDNA, do inglês, *double-stranded RNA*), que constituem os genomas de alguns vírus e que são gerados durante o ciclo de vida da maioria dos vírus e se distinguem dos dsRNAs do hospedeiro pela edição do RNA e localização endossômica; RNA de fita simples, que se

distinguem dos transcritos de fita simples de RNA citoplasmáticos celulares pela localização junto aos endossomos e por seu alto conteúdo de guanosina e uridina; e dinucleotídeos CpG não metilados, que são comuns em procariotos e raros em genomas de vertebrados.

Os TLRs também estão envolvidos nas respostas a moléculas endógenas cuja expressão ou localização indica dano celular. São exemplos de moléculas do hospedeiro que engajam TLRs, as proteínas de choque térmico (HSPs, do inglês, *heat shock proteins*), que são chaperonas induzidas em resposta a vários estresses celulares, e a proteína de alta mobilidade do grupo *box* 1 (HMGB1, do inglês, *high-mobility group Box 1*), uma proteína de ligação ao DNA abundante envolvida na transcrição e no reparo do DNA. Ambas, HSPs e HMGB1, são normalmente intracelulares, mas podem se tornar extracelulares quando liberadas apartir de células lesadas ou que estão morrendo. De sua localização extracelular, essas proteínas ativam a sinalização de TLR2 e TLR4 em DCs, macrófagos e outros tipos celulares.

A base estrutural das especificidades do TLR reside nos múltiplos módulos extracelulares ricos em leucina desses receptores, que se ligam diretamente aos PAMPs ou a moléculas adaptadoras que se ligam aos PAMPs. Existem entre 16 e 28 repetições ricas em leucina nos TLRs. Cada um desses módulos é composto por 20-30 aminoácidos que incluem motivos LxxLxLxxN (onde L é leucina, x é qualquer aminoácido, e N é asparagina) e resíduos de aminoácidos que variam entre diferentes TLRs. Os resíduos variáveis de ligação ao ligante dos módulos estão na superfície convexa formada por αhélices e voltas ou alças β. Essas repetições contribuem para a habilidade de alguns TLRs de se ligarem a moléculas hidrofóbicas, como o LPS bacteriano. A ligação do ligante aos domínios ricos em leucina causa interações físicas entre moléculas de TLR e formação de dímeros de TLR. O repertório de especificidades do sistema TLR é ampliado pela habilidade dos TLRs de se heterodimerizarem uns com os outros. Por exemplo, dímeros de TLR2 e TLR6 são necessários para as respostas à peptidoglicana.

As especificidades dos TLRs também são influenciadas por várias moléculas acessórias não TLR. Isso é mais bem definido para as respostas do TLR4 ao LPS. O LPS se liga primeiro à proteína solúvel de ligação ao LPS no sangue ou no fluido extracelular, e esse complexo serve para facilitar a distribuição do LPS à superfície da célula respondedora. Uma proteína extracelular chamada MD2 (do inglês, *myeloid differentiation protein 2*) se liga ao componente lipídeo A do LPS e forma um complexo que então interage com o TLR4 e inicia a sinalização. Outra proteína chamada CD14 também é requerida para uma sinalização LPS-induzida eficiente. CD14 é expressa na maioria das células (exceto nas células endoteliais), na forma de uma proteína solúvel ou como uma proteína de membrana ligada ao glicofosfatidilinositol. Ambas, CD14 e MD2, também podem se associar a outros TLRs. Sendo assim, diferentes combinações de moléculas acessórias nos complexos TLR podem servir para ampliar a gama de produtos microbianos capazes de induzir respostas imunes inatas.

Os TLRs são encontrados na superfície celular e em membranas intracelulares, sendo assim capazes de reconhecer microrganismos em diferentes localizações celulares (Fig. 4.2). Os TLRs 1, 2, 4, 5 e 6 são expressos na membrana plasmática, onde reconhecem vários PAMPs no ambiente extracelular. Alguns dos estímulos microbianos mais potentes para respostas imunes inatas se ligam a esses TLRs de membrana plasmática, como o LPS bacteriano e o ácido lipoteicoico, que são reconhecidos pelos TLRs 4 e 2, respectivamente. Em contraste, os TLRs 3, 7, 8 e 9 são expressos principalmente dentro das células, no retículo endoplasmático e nas membranas endossômicas, onde detectam vários ácidos nucleicos microbianos diferentes. Entre estes, estão o RNA de fita dupla, que se liga ao TLR3; o RNA de fita simples, que se liga ao TLR7 e TLR8; e os motivos CpG não metilados no DNA, que se ligam ao TLR9. Os RNAs de fita simples e de fita dupla não são exclusivos de microrganismos, mas sua localização nos endossomos tende a refletir a origem microbiana. Isso se deve ao fato de o RNA da célula hospedeira normalmente estar ausente nos endossomos, enquanto o RNA microbiano pode terminar nos endossomos de neutrófilos, macrófagos ou DCs quando os microrganismos são fagocitados por estas células. A digestão enzimática dos microrganismos junto aos endossomos resulta na liberação de seus ácidos nucleicos, os quais então podem se ligar aos TLRs presentes na membrana endossômica. Assim, os TLRs endossômicos podem distinguir entre os ácidos nucleicos das células normais e os ácidos nucleicos microbianos com base na localização celular dessas moléculas. Uma proteína presente no retículo endoplasmático chamada UNC-93B é requerida para a localização endossômica e funcionamento adequado dos TLRs 3, 7, 8 e 9. A deficiência genética de UNC-93B leva à suscetibilidade a certas infecções virais, sobretudo à encefalite pelo vírus do herpes simples, demonstrando a importância da localização endossomal dos TLRs para a defesa inata contra vírus.

O reconhecimento de ligantes microbianos pelo TLR resulta na ativação de diversas vias de sinalização e, por fim, de fatores de transcrição, induzindo a expressão de genes cujos produtos são importantes para as respostas inflamatória e antiviral (Fig. 4.3). As vias de sinalização são iniciadas pela ligação do ligante ao TLR na superfície da célula, ou no retículo endoplasmático ou nos endossomos, levando à dimerização das proteínas de TLR. É previsto que a dimerização do TLR induzida pelo ligante aproxima os domínios TIR das caudas citoplasmáticas de cada proteína entre si. A isso se segue o recrutamento de proteínas adaptadoras contendo domínio TIR, que facilita o recrutamento e ativação de várias proteínas quinases, levando à ativação de diferentes fatores de transcrição. Os principais fatores de transcrição ativados pelas vias de sinalização de TLR são o fator nuclear κB (NFκB), a proteína de ativação 1 (AP-1), o fator regulador de interferon 3 (IRF3) e IRF7. NFκB e AP-1 estimulam a expressão de genes codificadores de muitas moléculas requeridas para as respostas inflamatórias, inclusive citocinas (p. ex.: fator de necrose tumoral [TNF] e IL-1), quimiocinas (p. ex.: CCL2 e CXCL8) e moléculas de adesão endotelial (p. ex.: E-selectina) (discutida posteriormente). IRF3 e IRF7 promovem a produção de interferons do tipo I (IFN-α e IFN-β), que são importantes para as respostas imunes inatas antivirais.

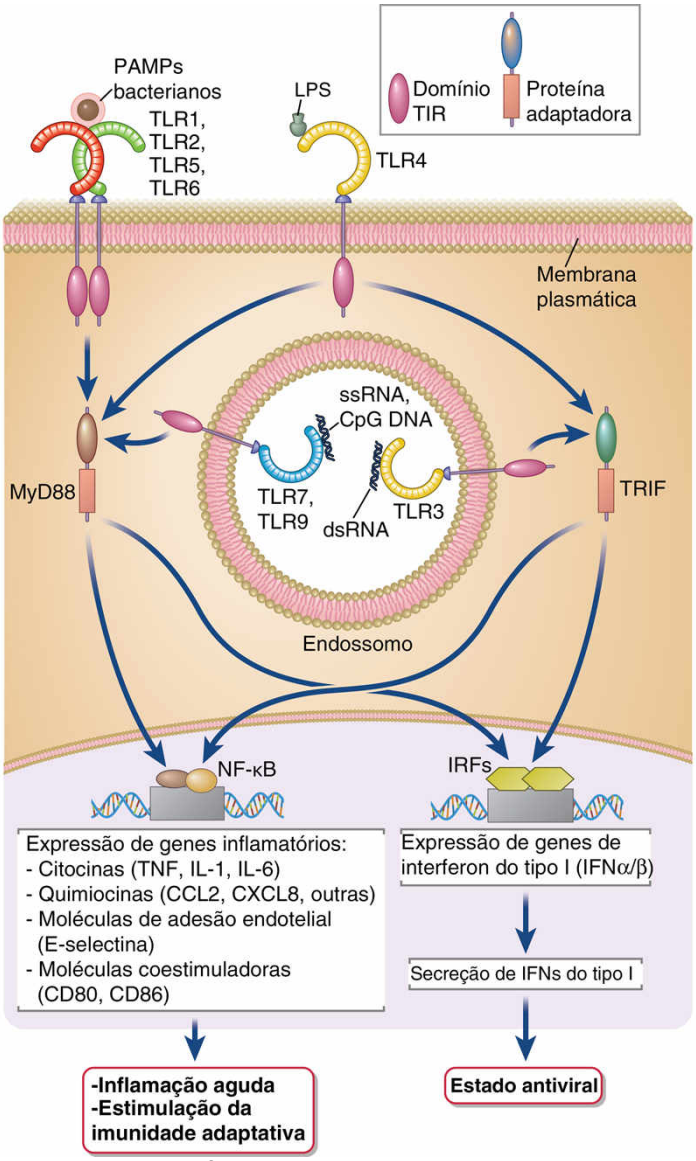


FIGURA 4.3 Vias de sinalização e funções de TLRs.
Os TLRs 1, 2, 5 e 6 usam a proteína adaptadora MyD88 e ativam os fatores de transcrição NF-κB e AP-1. O TLR3 usa a proteína adaptadora TRIF e ativa os fatores de transcrição IRF3 e IRF7. O TLR4 pode ativar ambas as vias. Os TLRs 7 e 9 no endossomo usam MyD88 e ativam NF-κB e IRF7. *IFN*, interferon; *IRFs*, fatores reguladores de interferon; *NF-κB*, fator nuclear kappa B.

Diferentes combinações de intermediários adaptadores e sinalizadores são usadas por diferentes TLRs, sendo responsáveis pelos efeitos *downstream* comuns e exclusivos dos TLRs. Exemplificando, os TLRs de superfície celular que engajam o adaptador MyD88 levam à ativação doNFκB, e a sinalização de TLR que usa o adaptador chamado TRIF (do inglês, *TIR domain-containing adaptor inducing IFN-β*) leva à ativação de IRF3. Todos os TLRs, exceto o TLR3, sinalizam através de MyD88 e, portanto, são capazes de ativar NFκB e induzir uma resposta inflamatória. O TLR3 sinaliza através de TRIF e, assim, ativa IRF3, que estimula a produção de interferons do tipo I. TLR4 sinaliza através de ambos, MyD88 e TRIF, e é capaz de induzir ambos os tipos de respostas. Os TLRs endossômicos 7 e 9, mais altamente expressos em DCs plasmacitoides (Capítulo 6), sinalizam através de uma via MyD88-dependente e TRIF-independente, a qual ativa NFκB e IRFs. Desta forma, TLR7 e TLR9, assim como TLR4, induzem respostas inflamatórias e antivirais. Os detalhes da ativação de NFκB serão discutidos no Capítulo 7.

Receptores Citosólicos para Padrões Moleculares Associados ao Patógeno e Padrões Moleculares Associados ao Dano

Além dos TLRs ligados à membrana, que percebem os patógenos presentes no lado de fora da célula ou nos endossomos, o sistema imune inato evoluiu de modo a equipar as células com receptores de reconhecimento de padrão que detectam infecção ou dano celular no citosol (Fig. 4.1 e Tabela 4.3). As três classes principais desses receptores citosólicos são os receptores do tipo NOD, receptores do tipo RIG (do inglês, *retinoic acid-inducible gene*) e os sensores de DNA citosólico. Esses receptores citosólicos, de modo similar aos TLRs, estão conectados a vias de transdução de sinal promotoras de inflamação ou de produção de interferon do tipo I. A capacidade do sistema imune inato de detectar infecção no citosol é importante, uma vez que partes dos ciclos de vida normais de alguns microrganismos, como a tradução de genes virais e a montagem de partículas virais, ocorrem no citosol. Algumas bactérias e parasitas têm mecanismos que lhes permitem escapar das vesículas fagocíticas para o citosol. Os microrganismos podem produzir toxinas que criam poros nas membranas plasmáticas celulares do hospedeiro, inclusive nas membranas endossômicas, através dos quais as moléculas microbianas conseguem entrar no citosol. Esses poros também podem resultar em alterações na concentração de moléculas endógenas, como íons, no citoplasma, as quais constituem sinais confiáveis de infecção e dano, e são detectadas por receptores citosólicos.

Receptores do Tipo NOD: NOD1 e NOD2

Os receptores do tipo NOD (NLRs, do inglês,* NOD-like receptors*) constituem uma família de mais de 20 proteínas citosólicas diferentes, algumas das quais reconhecem PAMPs e DAMPs, além de recrutarem outras proteínas para formar complexos de sinalização promotores de inflamação. Os NLRs típicos incluem um domínio de repetição rico em leucina C-terminal que percebe a presença do ligante; um domínio NOD (do inglês, *nucleotide oligomerization domain*, também chamado NACHT) central, requerido para a ligação de um com outro e para formação de oligômeros; e um domínio efetor N-terminal, que recruta outras proteínas para formar complexos de sinalização (Fig. 4.4). Existem três subfamílias NLR que atuam como receptores imunes inatos, cada uma das quais usando um domínio efetor diferente para iniciar a sinalização. São elas: NLRB, que usa o domínio efetor BIR (do inglês, *baculovirus inhibition of apoptosis protein repeat*); NLRC, que usa CARDs (do inglês, *caspase recruitment and activation domains*); e NLRP, que usa domínios pirina (assim chamados por serem encontrados em proteínas envolvidas na causa da febre) (Fig. 4.4). Os NLRs são encontrados em uma ampla variedade de tipos celulares, embora alguns tenham expressão celular restrita. Alguns dos NLRs mais bem estudados são encontrados em células imunes e inflamatórias, bem como em células de barreira epitelial. Discutiremos aqui dois NLR sensores de PAMPs bacterianos, denominados NOD1 e NOD2. Outros NLRs serão abordados posteriormente, quando da discussão sobre inflamassomos.

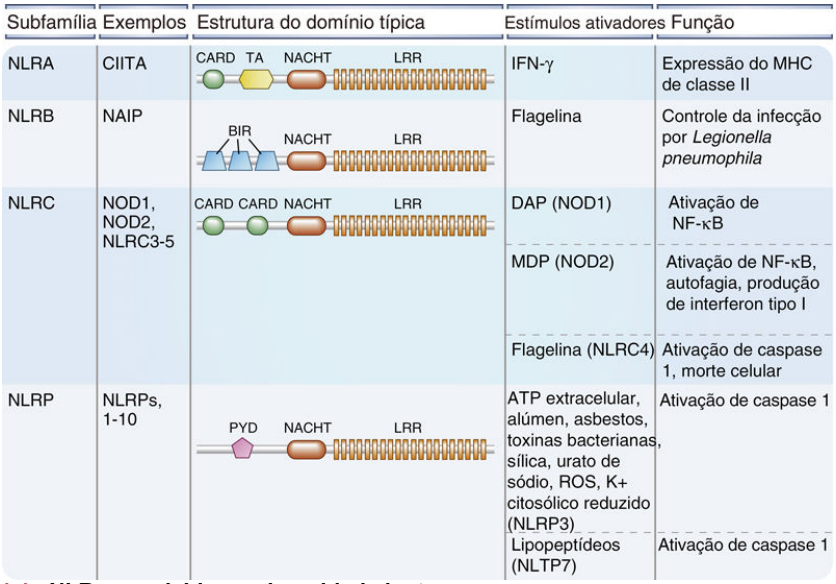


FIGURA 4.4 NLRs envolvidos na imunidade inata.
Os membros da família NLR que exercem funções imunes podem ser designados a uma dentre quatro subfamílias: NLRA, NLRB, NLRC e NLRP, cada uma das quais com um domínio efetor N-terminal diferente. NLRA, mais bem conhecido como CIITA, é um fator de transcrição que tem um domínio efetor de transativação (TA) N-terminal para expressão do gene do MHC de classe II. NLRB tem um domínio de repetição da proteína de inibição de apoptose do baculovírus (BIR), cuja função é desconhecida. Os membros de NLRC têm um domínio de recrutamento e ativação de caspase (CARD) N-terminal, que está envolvido na ativação de caspase-1. Os membros de NLRP têm um domínio pirina (PYD), que também ativa caspase-1. Todos os NLRs contêm um domínio central NOD ou NACHT (NAIP, CIITA, HET-E e TP1) envolvido na ligação de nucleotídeo, e domínios de repetição ricos em leucina C-terminais envolvidos no reconhecimento do ligante. Algumas das principais funções e ligantes ativadores de NLRs são mostrados. *DAP*, ácido diaminopimélico; *LRR*, repetição rica em leucina; *MDP*, muramil dipeptídeo; *NOD*, domínio de oligomerização de nucleotídeo.

NOD1 e NOD2 são membros da subfamília NLRC, expressos no citosol de vários tipos celulares, incluindo células epiteliais de mucosa e fagócitos, e respondem a peptidoglicanas da parede celular bacteriana. NOD2 é altamente expresso nas células de Paneth intestinais, no intestino delgado, onde estimula a expressão de substâncias antimicrobianas chamadas defensinas em resposta aos patógenos. NOD1 reconhece um tripeptídeo glicosilado chamado DAP (ácido diaminopimélico) derivado principalmente de peptidoglicana de bactérias Gram-negativas enquanto NOD2 reconhece uma molécula distinta chamada MDP (muramil dipeptídeo) derivada de peptidoglicanas de bactérias Gram-positivas e Gram-negativas. Esses peptídeos são liberados de bactérias intra ou extracelulares e, neste último caso, sua presença no citosol requer mecanismos bacterianos especializados de distribuição dos peptídeos nas células hospedeiras. Esses mecanismos incluem os sistemas de secreção de tipos III e IV, os quais evoluíram em bactérias patogênicas como forma de transmitir toxinas para o interior das células hospedeiras. Quando oligômeros de NODs reconhecem seus ligantes peptídicos, incluindo as toxinas bacterianas, ocorre uma alteração conformacional que permite aos domínios efetores CARD das proteínas NOD recrutarem múltiplas cópias da quinase RIP2, formando um complexo sinalizador que foi denominado sinalossomo NOD. As quinases RIP2 nesses complexos ativam NFκB que estimula a produção de citocinas e outras moléculas envolvidas na inflamação, similar aos TLRs que sinalizam via MyD88, discutidos anteriormente. Ambos, NOD1 e NOD2, parecem ser importantes nas respostas imunes inatas a patógenos bacterianos no trato gastrintestinal, como *Helicobacter pylori* e *Listeria monocytogenes*.

Certos polimorfismos do gene *NOD2* aumentam o risco de uma enteropatia inflamatória conhecida como doença de Crohn. Uma possível explicação para essa associação é que as variantes NOD2 associadas à doença são defeituosas em sua habilidade de perceber a presença de produtos microbianos, resultando em respostas inatas defeituosas contra organismos comensais e patogênicos no intestino. Se esses organismos ganharem acesso à parede intestinal, podem deflagrar inflamação crônica. Do mesmo

modo, mutações do tipo "ganho de função" de NOD2, que causam intensificação da sinalização de NOD e ativação de NFκB, levam a uma doença inflamatória sistêmica chamada síndrome de Blau.

Sensores de DNA Citosólico e a Via STING

Os sensores de DNA citosólico (CDSs) são moléculas que detectam DNA de fita dupla (dsDNA) microbiano no citosol e ativam vias de sinalização que iniciam respostas antimicrobianas, incluindo a produção de interferon do tipo I e autofagia. O DNA pode ser liberado no citosol a partir de vários microrganismos intracelulares. A habilidade do sistema imune inato de distinguir e reagir ao DNA microbiano e não ao DNA do hospedeiro está parcialmente relacionada à localização da maioria dos sensores de DNA no citosol, onde pode haver DNA microbiano e não DNA de mamífero.

A via STING (do inglês,* stimulator of IFN genes*) é um mecanismo importante de ativação dsDNA-induzida das respostas de interferon do tipo I (Fig. 4.5). Nessa via, o dsDNA citosólico, geralmente de origem microbiana, ativa a enzima cGAS (sintase de GMP-AMP cíclico) e isso gera uma molécula de sinalização chamada cGAMP (GMP-AMP cíclico). STING é uma proteína adaptadora transmembrana localizada no retículo endoplasmático que se liga ao cGAMP e ativa a TBK1 quinase, que fosforila e ativa o fator de transcrição IRF3, levando à expressão do gene de IFN do tipo I. STING também responde a outros sensores de DNA citosólico além de cGAS, incluindo DAI (do inglês, *DNA-dependent activator of IFN-regulatory factors*) e IFI16 (*interferon inducible protein 16*). Além de induzir a produção de IFN, STING estimula a autofagia, um mecanismo pelo qual as células degradam suas próprias organelas, como as mitocôndrias, sequestrando-as em vesículas ligadas à membrana e fundindo essas vesículas aos lisossomos. Na imunidade inata, a autofagia é um mecanismo de direcionamento de microrganismos citosólicos para os lisossomos, onde são mortos pela ação de enzimas proteolíticas. Na imunidade adaptativa, a autofagia é um dentre vários mecanismos geradores de peptídeos microbianos para apresentação às células T.

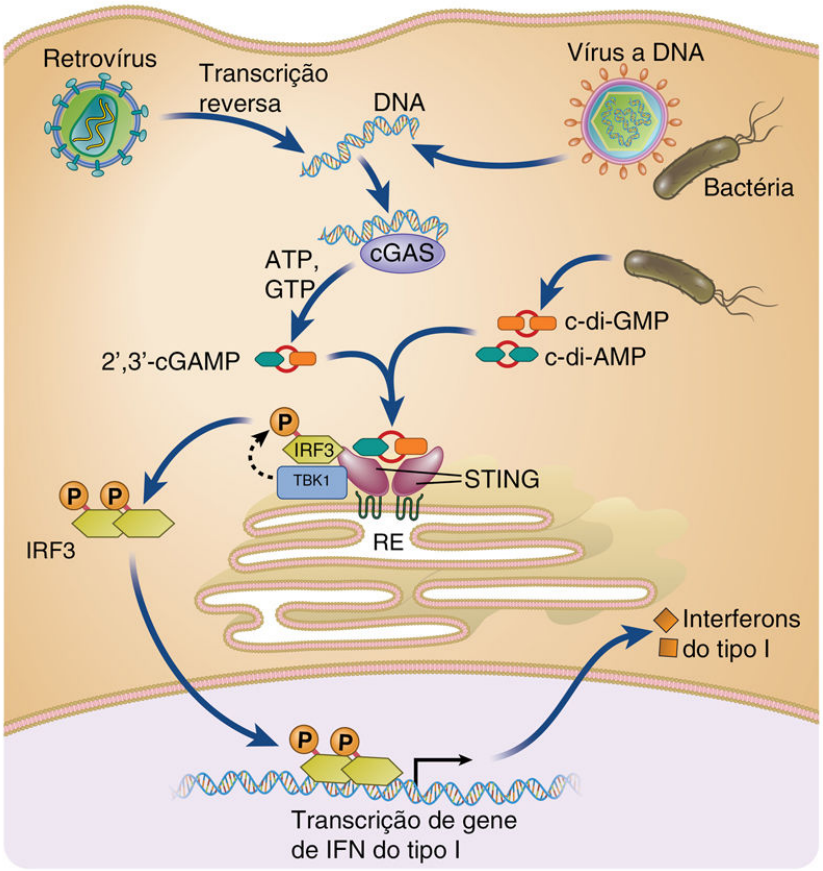


FIGURA 4.5 Via de percepção de DNA citosólico STING.
O DNA microbiano citoplasmático ativa a enzima cGAS, que catalisa a síntese de GMP-AMP cíclico (cGMP) a partir de ATP e GTP. O cGAMP se liga a STING na membrana do retículo endoplasmático e, então, STING recruta e ativa a quinase TBK1, que fosforila IRF3. O fosfo-IRF3 se move para o núcleo, onde induz a expressão do gene de IFN do tipo I. As moléculas de segundo mensageiro bacterianas di-GMP cíclico (c-di-GMP) e di-AMP cíclico (c-di-AMP) são diretamente percebidos por STING. *cGAS*, GMP-AMP cíclico sintase; *IFN*, interferon; *IRF3*, fator de resposta ao interferon 3.

Alguns sensores de DNA citosólico podem atuar por vias independentes de STING.

- A RNA polimerase 3 se liga e transcreve dsDNA microbiano rico em AT em uma porção de trifosfato contendo RNA, a qual então ativa a via RIG-I levando à expressão de interferon do tipo I, como descrito posteriormente.
- AIM2 (do inglês, *absent in melanoma-2*) é outro sensor citosólico que reconhece dsDNA citosólico e forma um complexo enzimático chamado inflamassomo, o qual gera proteoliticamente uma citocina inflamatória biologicamente ativa, a IL-1β, a partir de um precursor inativo. Os inflamassomos também são formados com outros sensores imunes inatos e são descritos adiante.

Receptores do Tipo RIG

Os receptores do tipo RIG (RLRs, do inglês,* RIG-like receptors*) são sensores citosólicos de RNA viral que respondem induzindo a produção de interferons do tipo I antivirais. Essa família de receptores foi assim nomeada em referência ao *RIG* (do inglês, *retinoid-inducible gene*). Os RLRs podem reconhecer RNA de fita dupla e heterocomplexos RNA-DNA, os quais incluem os genomas de vírus de RNA e transcritos de RNA de vírus de RNA e de DNA. Os dois RLRs mais bem caracterizados são RIG-I e MDA5 (do inglês, *melanoma differentiation-associated gene 5*). Ambas as proteínas contêm dois domínios de recrutamento de caspase N-terminais que interagem com outras proteínas sinalizadoras, um domínio

de RNA-helicase e um domínio C-terminal, estando esses dois últimos domínios envolvidos no reconhecimento de RNA. RIG-I e MDA5 reconhecem diferentes conjuntos de RNAs virais que são característicos de vírus distintos e atípicos do RNA de mamíferos. Por exemplo, MDA5 reconhece dsRNA longo (1-6 kb), que é mais comprido que o dsRNA que pode ser formado de modo transiente em células normais; enquanto RGI-I somente reconhecerá RNA contendo uma porção 5'-trifosfato, que está ausente no RNA citosólico da célula hospedeira de mamíferos, devido à adição de uma capa de 7-metilguanosina ou remoção do 5'-trifosfato. Os RLRs são expressos em uma ampla variedade de tipos celulares, incluindo leucócitos derivados da medula óssea e várias células teciduais. Portanto, esses receptores permitem que os numerosos tipos celulares suscetíveis à infecção por vírus de RNA montem respostas imunes inatas a esses vírus.

Com a ligação do dsRNA viral, os RLRs são recrutados para a membrana mitocondrial externa pela proteína MAVS (do inglês, *mitochondrial antiviral-signaling*), levando à formação de filamentos por um mecanismo do tipo príon. Isso inicia eventos de sinalização que levam à fosforilação e ativação de IRF3 e IRF7, bem como de NFκB, e esses fatores de transcrição induzem a produção de interferons do tipo I. MDA5 e RIG-I não somente induzem a produção de IFN do tipo I, como também inibem diretamente a replicação viral ao inibirem as interações proteína-RNA viral.

Inflamassomos

Os inflamassomos são complexos multiproteicos que se formam no citosol em resposta aos PAMPs e DAMPs citosólicos, cuja função é gerar formas ativas das citocinas inflamatórias IL-1β e IL-18 (Fig. 4.6). Essas duas citocinas homólogas são expressas como precursores inativos, que devem ser proteoliticamente clivados pela enzima caspase-1 para se tornarem citocinas ativas que são liberadas da célula e promovem respostas inflamatórias. Os inflamassomos são compostos de oligômeros de um sensor, a caspase-1, e de um adaptador que liga ambos, e esses complexos oligoméricos somente se formam quando os sensores respondem aos PAMPs, DAMPs ou a alterações na célula indicativas da presença de infecção ou dano. Portanto, a inflamação mediada por IL-1β e IL-18 ocorre quando há PAMPs ou DAMPs no citosol, indicando infecção ou lesão celular.

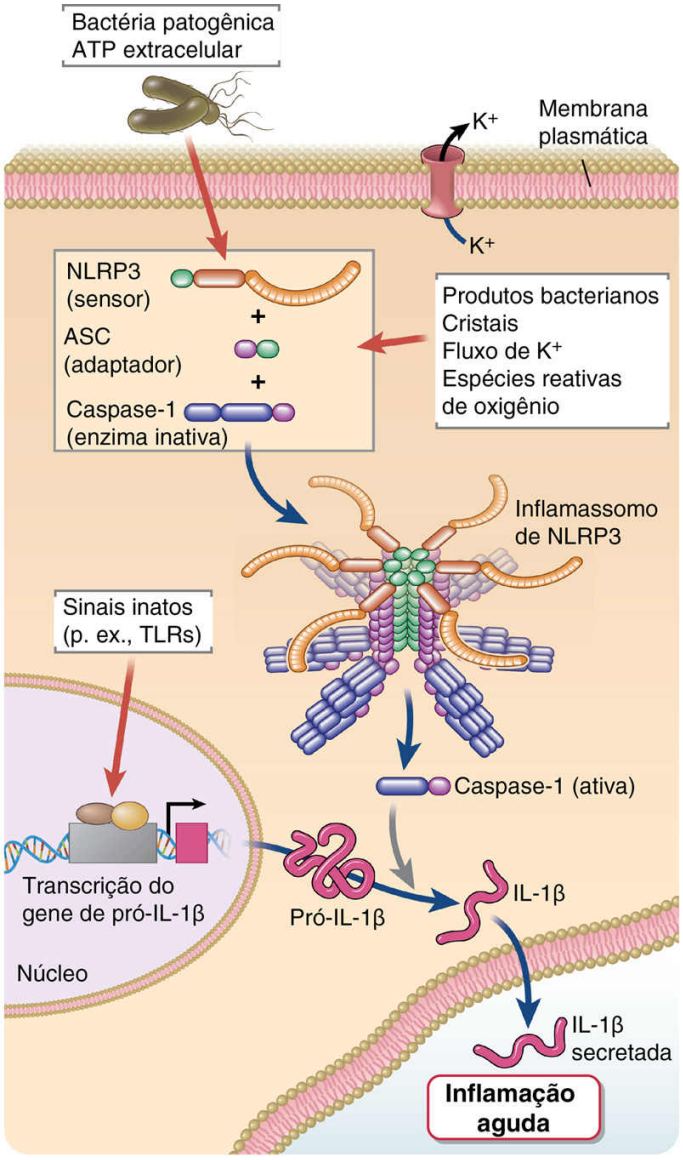


FIGURA 4.6 Inflamassomo.
A ativação do inflamassomo NLRP3, que processa pró-IL-1 em IL-1 ativa, é mostrada. Os inflamassomos com outras proteínas NLRP atuam de forma similar. Vários PAMPs ou DAMPs induzem expressão de pró-IL-1β via sinalização de receptor de reconhecimento de padrão. *ASC*, proteína do tipo *speck* associada à apoptose contendo CARD; *IL-1*, interleucina-1.

Os inflamassomos podem se formar com várias proteínas sensores diferentes. A família de sensores NLR, encontrados em diferentes inflamassomos, inclui NLRB, BLRC4 e pelo menos seis proteínas NLRP (Fig. 4.4). Os sensores que não pertencem à família NLR, mas são usados pelos inflamassomos, incluem os membros da família AIM2, incluindo AIM2 e IFI16, os quais discutimos anteriormente como sensores de DNA. Essas proteínas contêm um domínio sensor de DNA e um domínio pirina. A pirina é outra proteína sensora não NLR, a qual contém um domínio pirina N-terminal e participa na formação de um inflamassomo. O gene codificador de pirina é mutante na febre familiar do Mediterrâneo, conforme discutido adiante.

A formação do inflamassomo é induzida quando as proteínas sensoras presentes no citosol reconhecem diretamente produtos microbianos ou, provavelmente de modo mais comum, quando os sensores detectam alterações na quantidade de moléculas endógenas ou de íons no citosol indicando indiretamente a presença de infecção ou dano celular. Em resposta aos PAMPs ou sinais indiretos, os sensores se tornam capazes de se ligar a outras proteínas via interações homotípicas entre domínios

estruturais compartilhados, formando assim o complexo inflamassomo. Por exemplo, após a ligação a um ligante, múltiplas proteínas NLRP3 idênticas interagem para formar um oligômero, e cada proteína NLRP3 no oligômero se liga a uma proteína adaptadora chamada ASC (do inglês, *apoptosis-associated speck-like protein containing a CARD*). A ligação de ASC a sensores como as proteínas NLRP a faz sofrer uma alteração conformacional que deflagra alterações conformacionais em outras moléculas ASC no citosol, por meio de um mecanismo de autopropagação do tipo príon. Isso resulta na formação de filamentos de ASC que podem se agrupar e recrutar um precursor inativo de caspase-1, chamado pró-caspase-1. O recrutamento e consequente agrupamento das proteínas pró-caspase-1 resultam na geração de caspase-1 ativa. As caspases são proteases contendo resíduos cisteína em seu sítio ativo, que clivam substratos proteicos em resíduos aspartato. Embora várias outras caspases participem de uma forma de morte celular denominada apoptose (Capítulo 15), a principal função da caspase-1 é clivar as formas precursoras citoplasmáticas inativas de IL-1β e IL-18. A clivagem pela caspase-1 gera formas ativas dessas citocinas, as quais então saem da célula e desempenham várias funções pró-inflamatórias. A IL-1β não tem um peptídeo sinalizador requerido para a secreção encontrado na maioria das proteínas originadas nas células. O mecanismo exato de sua liberação a partir das células após seu processamento é desconhecido. Ainda neste capítulo, mais adiante, descreveremos em detalhes a ação da IL-1β e da IL-18, bem como a resposta inflamatória. Por hora, basta dizer que a inflamação induzida pela IL-1 tem função protetora, por meio da eliminação dos microrganismos e células danificadas que induziram a formação do inflamassomo.

A ativação do inflamassomo é induzida por uma ampla gama de estímulos citoplasmáticos frequentemente associados a infecções e estresse celular, incluindo produtos microbianos, cristais ambiental ou endogenamente derivados, e diminuição das concentrações citosólicas de íon potássio (K^+) (Fig. 4.6). NLRC4 reconhece a flagelina citosólica e componentes do sistema de secreção do tipo III das bactérias. NLRP1 reconhece a toxina letal do antraz. NLRP3 percebe muitos DAMPs e PAMPs, incluindo cristais de ácido úrico, cristais de hidróxido de alumínio usados em adjuvantes de vacina, adenosina trifosfato (ATP) liberada de mitocôndrias, sílica, produtos bacterianos, toxinas bacterianas produzidas por estreptococos e estafilococos, híbridos DNA-RNA bacterianos, e o vírus influenza. NLRP12 é um sensor dos PAMPs de espécies de *Yersinia* e é requerido para o controle da bactéria. A pirina responde a numerosas toxinas bacterianas, todas elas mediadoras de modificação pós-traducional de GTPases endógenas da família Rho.

O mecanismo pelo qual essas moléculas diversificadas ativam os mesmos sensores NLR não é claro. A diversidade estrutural dos agentes que ativam esses sensores sugere que eles não se ligam diretamente a proteínas NLR, mas podem atuar induzindo um conjunto compartilhado de alterações em condições citoplasmáticas endógenas que ativam os NLRs. As concentrações citoplasmáticas reduzidas do íon potássio podem ser um destes mecanismos comuns, porque as diminuições do K^+ celular induzidas por algumas toxinas bacterianas formadoras de poros podem ativar os inflamassomos, e muitos dos outros ativadores de inflamassomo conhecidos, como o ATP extracelular, causam efluxo aumentado de K^+ das células. Outro mecanismo comum implicado na ativação do inflamassomo é a geração de espécies reativas de oxigênio (ROS, do inglês, *reactive oxygen species*), que são radicais livres de oxigênio tóxicos produzidos com frequência durante a lesão celular. Cristais ativadores do inflamassomo podem atuar danificando as membranas lisossomais, liberando assim ROS no citosol, onde são detectados pelos sensores que estimulam a formação do inflamassomo.

A ativação do inflamassomo também causa uma forma inflamatória de morte celular programada de macrófagos e DCs (mas não de neutrófilos nem da maioria dos outros tipos celulares) chamada **piroptose**. A piroptose é caracterizada pelo inchaço das células, perda da integridade da membrana plasmática e liberação de mediadores inflamatórios, incluindo IL-1β, IL-18, TNF, IL-6 e IL-8. A piroptose também resulta na morte de certos microrganismos que ganham acesso ao citosol. Uma das principais características da piroptose é a clivagem caspase-mediada de uma proteína chamada gasdermina D, levando à formação de poros na membrana. A piroptose pode ser induzida pela ativação de inflamassomos canônicos que usam caspase-1, conforme descrito anteriormente, ou de um inflamassomo não canônico que usa uma caspase diferente (caspase-11 em roedores, caspase-4 ou caspase-5 em seres humanos). O LPS bacteriano no citosol pode se ligar diretamente à caspase-11, levando à ativação do inflamassomo e à piroptose. A amplificação da inflamação promovida pela piroptose intensifica a depuração bacteriana, mas também pode contribuir para o choque séptico, uma grave reação sistêmica a citocinas inflamatórias. A ausência de caspase-11 em camundongos geneticamente modificados os protege do choque séptico induzido por LPS.

A descoberta de que algumas substâncias cristalinas são potentes ativadores de inflamassomo mudou nosso conhecimento sobre certas doenças inflamatórias. A **gota** é uma condição inflamatória dolorosa das articulações, que há muito se sabe estar associada à deposição de cristais de urato monossódico nas articulações. Evidências experimentais sugerem que, quando esses cristais são fagocitados, danificam as membranas lisossômicas das células, o que leva à ativação de inflamassomos e subsequente inflamação. Com base nesses achados, antagonistas de IL-1 têm sido usados para tratar efetivamente casos graves de gota que são resistentes aos fármacos anti-inflamatórios convencionais. Similarmente, a pseudogota é causada pela deposição de cristais de pirofosfato de cálcio e ativação de inflamassomo. A inalação ocupacional de sílica e asbesto (também conhecido como amianto) pode acarretar doença pulmonar fibrótica e inflamatória crônica, sendo que também há interesse no potencial bloqueio do inflamassomo ou IL-1 para tratamento dessas doenças.

A ativação desregulada do inflamassomo devido a mutações autossômicas do tipo "ganho de função" em uma ou outra das suas proteínas componentes leva a uma produção de IL-1 inadequadamente deflagrada e excessiva. O resultado são crises recorrentes de febre e inflamação localizada, mais comumente na pele, articulações e cavidade abdominal. Esses distúrbios são chamados **síndromes autoinflamatórias**, porque são caracterizadas pela inflamação espontânea na ausência de deflagrador incitante evidente. Dentre essas doenças, aquela que foi estudada por mais tempo é a febre familiar do Mediterrâneo, causada pela mutação do gene *MEFV*, codificador de pirina. As doenças autoinflamatórias causadas por mutações em NLRP3 (também conhecido como criopirina) são chamadas síndrome periódicas associadas à criopirina (SPAC, do inglês, *cryopyrin-associated periodic syndromes*). Pacientes com SPAC podem ser tratados com sucesso com antagonistas de IL-1, conforme previsto a partir da patogênese das síndromes. Essas doenças são distintas dos *distúrbios autoimunes*, que são distúrbios de imunidade adaptativa causados por anticorpos e/ou células T reativas a antígenos próprios.

Recentemente, tem havido interesse significativo sobre o inflamassomo, em consequência dos achados demonstrando que é possível ativá-lo com quantidades excessivas de substâncias endógenas depositadas nos tecidos no contexto de diversas doenças. Estas substâncias incluem cristais de colesterol em macrófagos na aterosclerose; ácidos graxos livres e lipídeos no tecido adiposo na síndrome metabólica associada à obesidade e diabetes tipo 2; e β-amiloide na doença de Alzheimer. Em todas essas situações, a ativação do inflamassomo leva à produção de IL-1 e inflamação, que podem contribuir para a patogênese das doenças. Esses achados estimularam a realização de triagens clínicas para aliviar algumas dessas doenças usando antagonistas de IL-1.

Outros Receptores de Reconhecimento de Padrão Associado à Célula

Vários outros tipos de receptores citoplasmáticos e de membrana plasmática transmitem sinais ativadores de modo similar aos TLRs, os quais promovem respostas inflamatórias e intensificam o *killing* de microrganismos, ou participam principalmente na captação de microrganismos para dentro dos fagócitos (Tabela 4.3).

Receptores Lectina Tipo C para Carboidratos Microbianos

Os receptores celulares que reconhecem carboidratos presentes na superfície de microrganismos facilitam a fagocitose desses microrganismos e a secreção de citocinas promotoras de inflamação e das respostas imunes adaptativas subsequentes (Tabela 4.4). Esses receptores pertencem à família da lectina tipo C, assim denominada por se ligar a carboidratos (daí *lectinas*) de modo dependente de Ca^{++} (daí *tipo C*). Os receptores lectina tipo C também são chamados CLRs, como um paralelo à nomenclatura dos TLRs e outros receptores. Esses receptores são proteínas integrais de membrana encontradas nas superfícies de macrófagos, DCs e algumas células teciduais. Outras lectinas são proteínas solúveis presentes no sangue e fluidos extracelulares (discutidas adiante). Todas essas moléculas contêm um domínio de reconhecimento de carboidrato conservado. Existem vários tipos de lectinas tipo C de membrana plasmática com especificidades para diferentes carboidratos, incluindo manose, glicose, N-acetilglicosamina e β-glucanas. Em geral, essas lectinas de superfície celular reconhecem estruturas de carboidrato encontradas nas paredes celulares de microrganismos e ausentes nas células de mamíferos. Alguns desses receptores lectina tipo C atuam na fagocitose de microrganismos, enquanto outros têm função de sinalização que induz respostas protetoras das células do hospedeiro aos microrganismos.

- Uma das lectinas tipo C de membrana mais estudadas é o **receptor de manose** (CD206), que está envolvido na fagocitose de microrganismos. Esse receptor reconhece certos açúcares terminais em carboidratos presentes na superfície microbiana, incluindo D-manose, L-fucose e *N*-acetil-D-glicosamina. Esses açúcares terminais estão frequentemente presentes na superfície de microrganismos, enquanto os carboidratos na superfície da célula eucariótica são mais comumente terminados por galactose e ácido siálico. Portanto, os açúcares terminais nos microrganismos podem ser considerados PAMPs. Os receptores de manose podem não ter quaisquer funções de sinalização intrínsecas e acredita-se que se ligam a microrganismos como primeira etapa na ingesta desses por macrófagos e DCs.
- **Dectinas** (lectinas tipo C associadas à DC) incluem vários CLRs diferentes codificados por um grupo de genes localizado no cromossomo 12 humano, que também inclui genes codificadores de receptores da célula *natural killer* (discutido posteriormente). As dectinas são expressas em DCs e macrófagos, e exercem papéis importantes na imunidade antifúngica, bem como nas respostas a certas bactérias. A dectina-1 (CD369) se liga à β-glucana, que é um dos principais componentes da parede celular de muitas espécies de fungos, e esse CLR é requerido para a imunidade a diversas espécies de fungos, entre as quais *Candida*, *Aspergillus* e *Pneumocytis*. A dectina-2 e *mincle* são duas dectinas que reconhecem oligossacarídeos ricos em manose presentes na forma de hifas de alguns fungos e bactérias. Em resposta à ligação de seus ligantes, essas dectinas induzem eventos de sinalização nas DCs e macrófagos, ativando uma variedade de funções imunes. A cauda citoplasmática da dectina-1 tem um motivo de ativação com base na tirosina do imunorreceptor (ITAM, do inglês, *immunoreceptor tyrosine-based activation motif*) que engaja tirosinas quinases, as quais transduzem sinais levando à transcrição gênica. Dectina-2 e *mincle* dependem de uma proteína de sinalização parceira contendo ITAM chamada FcRγ. Os ITAMs são usados por muitos receptores de ativação celular diferentes no sistema imune, e seu mecanismo de sinalização será discutido no Capítulo 7. Em resposta à ligação do ligante à dectina-1, dectina-2 ou *mincle*, as DCs produzem citocinas e outras proteínas que promovem inflamação e intensificam as respostas imunes adaptativas. Algumas citocinas induzidas promovem o desenvolvimento de um tipo de célula T efetora chamada Th17, que é particularmente efetiva na defesa contra infecções por fungos e algumas infecções bacterianas (Capítulo 10).
- **Langerina** (CD207) e **DC-SIGN** (CD209) são outros dois CLRs expressos em DCs, ambos se ligam à manose e possuem papéis nas respostas imunes inata e adaptativa a vários microrganismos. A langerina é expressa pelas células de Langerhans epidérmicas e outras subpopulações de DCs na pele e em outras barreiras epiteliais. DC-SIGN é expresso na maioria das DCs, bem como em macrófagos e células endoteliais sinusoidais. DC-SIGN se liga a glicoproteínas do envelope do vírus da hepatite C e do HIV-1, podendo ter papel patogênico na disseminação da infecção por esses vírus.

Tabela 4.4

Receptores Lectina Tipo C

	Receptor de Manose (CD206)	Dectina-1 (CD369)	Dectina-2 e *Mincle*	*DC-Sign* (CD209)	Langerina (CD207)
Ligante	Manose e fucose terminais em superfícies celulares microbianas	β-glucana em superfícies celulares fúngicas	Alta manose em hifas de fungo e em bactérias	Manose e fucose terminais em superfícies celulares microbianas	Manose terminal em superfícies celulares microbianas
Sinalização	Incerta	Via ITAM/SYK/ CARD9 de ativação de NF-κB	Via ITAM/SYK/ CARD9 de ativação de NF-κB	Incerta	Incerta
Expressão celular	Macrófagos	Células dendríticas	Células dendríticas	Células dendríticas, macrófagos e células endoteliais sinusoidais	Células dendríticas em barreiras epiteliais
Função	Fagocitose; imunidade antifúngica	Inflamação e apresentação de antígeno; diferenciação de Th17; imunidade antifúngica	Inflamação e apresentação de antígeno; diferenciação de Th17; imunidade antifúngica e antimicobacteriana	Adesão; vírus da hepatite C e infecção por HIV-1	Fagocitose, apresentação de antígeno

DC-Sign, molécula de adesão intercelular específica da célula dendrítica 3 (ICAM-3) - prendedora não integrina; *ITAM*, motivo de ativação baseado na tirosina do imunorreceptor; *Mincle*, lectina Ca^{++} - dependente induzível de macrófago.

Receptores Scavenger

Os **receptores *scavenger*** constituem uma coleção estrutural e funcionalmente diversificada de proteínas de superfície celular, originalmente agrupadas com base na característica comum de mediar a captação de lipoproteínas oxidadas para dentro das células. Alguns desses receptores *scavenger*, incluindo SR-A e CD36, são expressos em macrófagos e medeiam a fagocitose de microrganismos. Além disso, CD36 atua como correceptor no reconhecimento TLR2/6 e na resposta a lipopeptídeos diacilados e ácido lipoteicoico derivado de bactérias. Há uma ampla gama de estruturas moleculares que se ligam a cada receptor *scavenger*, entre os quais o LPS, ácido lipoteicoico, ácidos nucleicos, β-glucana e proteínas. A significância dos receptores *scavenger* na imunidade inata é destacada pela aumentada suscetibilidade à infecção em camundongos *knockout* que não expressam os genes para esses receptores e pela observação de que vários patógenos microbianos expressam fatores de virulência que bloqueiam o reconhecimento e a fagocitose mediada pelo receptor *scavenger*.

Receptores Formil-Peptídeo

O **receptor de formil-peptídeo-1** (FPR1), expresso em leucócitos, reconhece peptídeos bacterianos contendo resíduos de *N*-formilmetionil e estimula o movimento direcionado das células. Como todas as proteínas bacterianas e poucas proteínas de mamíferos (somente aquelas sintetizadas junto às mitocôndrias) são iniciadas por *N*-formilmetionina, FPR1 permite que os fagócitos detectem e respondam preferencialmente a proteínas bacterianas. Os ligantes peptídicos bacterianos que se ligam a esse receptor são alguns dos agentes quimiotáticos para leucócitos mais potentes conhecidos. Os agentes quimiotáticos incluem vários tipos de moléculas difusíveis, normalmente produzidas em sítios de infecção, que se ligam a receptores específicos nas células e direcionam seu movimento rumo à fonte do agente quimiotático. Outros quimiotáticos, como as quimiocinas discutidas no Capítulo 3, são produzidos pelas células do hospedeiro. FPR1 e todos os outros receptores de agentes quimiotáticos pertencem à superfamília de receptores com sete alças transmembrana acoplados à proteína G (GPCR) ligadores de guanosina trifosfato (GTP). Esses receptores iniciam respostas intracelulares por meio de proteínas G triméricas associadas (Capítulo 7). As proteínas G estimulam muitos tipos de respostas

celulares, incluindo alterações do citoesqueleto que são responsáveis pelo aumento da motilidade celular.

Componentes Celulares do Sistema Imune Inato

As células do sistema imune inato atuam como barreiras contra infecções e como sentinelas para detectar microrganismos e células danificadas em tecidos, além de desempenharem funções que são essenciais para a defesa contra os microrganismos. Vários tipos celulares expressam os diversos receptores de reconhecimento de padrão que acabamos de discutir e, após o reconhecimento de PAMPs e DAMPs, as células respondem produzindo citocinas inflamatórias e proteínas antivirais; outras matam microrganismos ou células infectadas. Adicionalmente, algumas células da imunidade inata são decisivas para a estimulação de respostas imunes adaptativas subsequentes.

Barreiras Epiteliais

As superfícies epiteliais intactas formam barreiras físicas entre os microrganismos presentes no meio externo e o tecido do hospedeiro, e as células epiteliais produzem compostos químicos antimicrobianos que impedem adicionalmente a entrada dos microrganismos (Fig. 4.7). As principais interfaces entre o ambiente e o hospedeiro mamífero são a pele e as superfícies de mucosa dos tratos gastrintestinal, respiratório e geniturinário. Essas interfaces são revestidas por camadas contínuas de células epiteliais especializadas que desempenham muitas funções fisiológicas, incluindo a prevenção da entrada de microrganismos. A perda da integridade dessas camadas epiteliais por traumatismo ou outras causas predispõe um indivíduo às infecções. Resumiremos aqui as principais características da defesa inata pelas barreiras epiteliais e discutiremos a imunidade da barreira epitelial com mais detalhes no Capítulo 14.

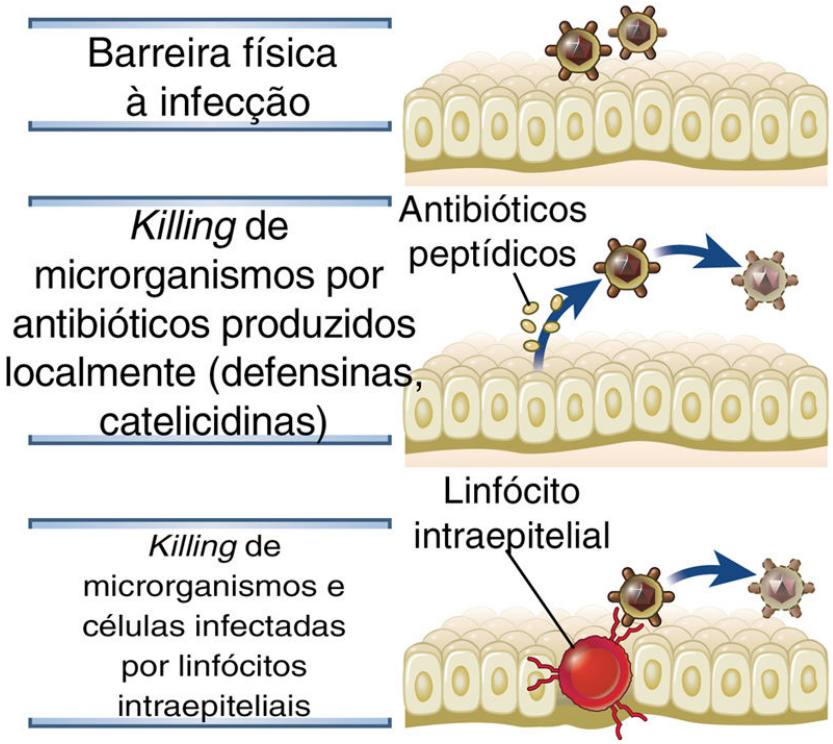


FIGURA 4.7 Barreiras epiteliais.
Os epitélios nas portas de entrada dos microrganismos atuam como barreiras físicas, produzem substâncias antimicrobianas e abrigam linfócitos intraepiteliais que se acredita serem capazes de matar microrganismos e células infectadas.

A função protetora dos epitélios de barreira é, em grande parte, física. As células epiteliais formam as zônulas de oclusão (*tight junctions*) umas com as outras, bloqueando a passagem de microrganismos entre as células. Na pele, a camada externa de queratina, que se acumula à medida que os queratinócitos na superfície morrem, serve para bloquear a penetração microbiana nas camadas mais profundas da epiderme. O muco, uma secreção viscosa contendo glicoproteínas chamadas mucinas, é produzido por células epiteliais respiratórias, gastrintestinais e urogenitais, e impede fisicamente a invasão microbiana. A função dessas barreiras é intensificada pela ação ciliar na árvore brônquica e pelo peristaltismo no intestino, facilitando a eliminação de microrganismos. Embora essas propriedades físicas isoladas sejam muito importantes na defesa do hospedeiro, outros mecanismos de defesa epitelial evoluíram para complementar a barreira mecânica.

As células epiteliais, bem como alguns leucócitos, produzem peptídeos dotados de propriedades antimicrobianas. Duas famílias estruturalmente distintas de peptídeos antimicrobianos são as defensinas e as catelicidinas.

- **Defensinas** são pequenos peptídeos, com 29-34 aminoácidos, que contêm regiões catiônicas e hidrofóbicas, além de três ligações dissulfeto intracadeia. Duas famílias de defensinas humanas denominadas α e β, são distinguidas pela localização dessas ligações. As defensinas são produzidas por células epiteliais de superfícies mucosas e por leucócitos contendo grânulos, incluindo neutrófilos, células *natural killer* e linfócitos T citotóxicos. O conjunto de moléculas de defensina produzidas difere entre os diferentes tipos celulares. As células de Paneth junto às criptas do intestino delgado são um dos principais produtores de α-defensinas. As defensinas da célula de Paneth às vezes são chamadas cripticidinas, cuja função é limitar a quantidade de microrganismos luminais próximos à barreira epitelial. As defensinas também são produzidas em outras partes do cólon, nas células da mucosa respiratória e também na pele. Algumas defensinas são constitutivamente produzidas por alguns tipos celulares, mas sua secreção pode ser intensificada por citocinas e produtos microbianos. As ações protetoras das defensinas incluem ambos, toxicidade direta aos microrganismos, incluindo bactérias, fungos e vírus envelopados, e a ativação de células envolvidas na resposta inflamatória aos microrganismos. As defensinas matam microrganismos por meio de vários mecanismos, muitos dos quais dependem de sua habilidade de se inserir e desorganizar as funções das membranas microbianas.
- **Catelicidina**, produzida por neutrófilos e células epiteliais de barreira na pele, trato gastrintestinal e trato respiratório, é sintetizada como uma proteína precursora de dois domínios de 18 kDa, e proteoliticamente clivada em dois peptídeos, ambos com funções protetoras. Tanto a síntese do precursor quanto a clivagem proteolítica podem ser estimuladas por citocinas inflamatórias e produtos microbianos. As catelicidinas ativas conferem proteção contra infecções por múltiplos mecanismos, incluindo toxicidade direta a uma ampla gama de microrganismos, e ativação de várias respostas em leucócitos e outros tipos celulares que promovem a erradicação de microrganismos. O fragmento C-terminal, chamado LL-37, pode se ligar e neutralizar LPS, o componente tóxico da parede externa de bactérias Gram-negativas reconhecido por TLR4.

Os epitélios de barreira contêm certos tipos de linfócitos, incluindo linfócitos T intraepiteliais, que reconhecem e respondem aos microrganismos comumente encontrados. Os linfócitos T intraepiteliais estão presentes na epiderme da pele e nos epitélios de mucosa. Várias subpopulações de linfócitos intraepiteliais estão presentes em diferentes proporções, dependendo das espécies e localização tecidual. Essas subpopulações são distinguidas principalmente pelo tipo de receptores antigênicos de célula T (TCRs) que expressam. Alguns linfócitos T intraepiteliais expressam a forma $\alpha\beta$ convencional do TCR, que está presente na maioria das células T em tecidos linfoides e na circulação. Outras células T nos epitélios expressam uma forma de receptor antigênico chamado TCR $\gamma\delta$ que podem reconhecer antígenos peptídicos e não peptídicos. Embora a maioria dos linfócitos T sejam mediadores de imunidade adaptativa, uma característica comum das células T intraepitliais é a limitada diversidade de seus receptores antigênicos, comparada com a maioria das células T no sistema imune adaptativo. Acredita-se que esses linfócitos T intraepiteliais reconhecem um pequeno número de estruturas microbianas comumente encontradas — uma característica típica dos receptores de reconhecimento de padrão inatos que descrevemos. Também é possível que esses linfócitos sejam ativados não pelo reconhecimento do antígeno, e sim pelas citocinas e outras moléculas produzidas por células epiteliais

em resposta ao estresse. Os linfócitos intraepiteliais podem atuar na defesa do hospedeiro secretando citocinas, ativando fagócitos e matando células infectadas.

Fagócitos

Células dotadas de funções fagocíticas especializadas, primariamente macrófagos e neutrófilos, constituem a primeira linha de defesa contra microrganismos que rompem as barreiras epiteliais. Introduzimos esses tipos celulares no Capítulo 2 e, posteriormente, continuaremos discutindo muitos outros detalhes de suas funções no contexto da resposta inflamatória, no presente capítulo. O papel essencial exercido pelos fagócitos na defesa imune inata contra microrganismos é demonstrado pela alta frequência de infecções fúngicas e bacterianas letais em pacientes com baixas contagens de neutrófilos no sangue decorrentes de cânceres de medula óssea ou quimioterapia e tratamento com radiação para câncer (que destrói as células imaturas na medula óssea), bem como em pacientes com deficiências hereditárias nas funções de neutrófilos e macrófagos. Alguns macrófagos estão sempre presentes na maioria dos tecidos e atuam como sentinelas de infecção, enquanto outros fagócitos, incluindo monócitos e neutrófilos, são recrutados para os tecidos infeccionados em resposta aos microrganismos ou aos sinais gerados pelas células sentinela.

Células Dendríticas

As DCs detectam de forma rápida e eficiente os microrganismos invasores, devido à sua localização nos tecidos e expressão de numerosos receptores de reconhecimento de padrão para PAMPs e DAMPs. As DCs expressam tipos mais diversificados de TLRs e receptores de reconhecimento de padrão citoplasmáticos do que qualquer outro tipo celular, e isso as torna mais versáteis como sensores de PAMPs e DAMPs entre todos os tipos celulares existentes no corpo. Em resposta aos microrganismos invasores, secretam citocinas inflamatórias que promovem o recrutamento de leucócitos adicionais oriundos do sangue. A subpopulação de DCs plasmacitoides constitui a principal fonte de citocinas antivirais, os interferons do tipo I, produzidas em resposta a infecções virais. Essa característica das DCs plasmacitoides é devido, em parte, ao fato de essas células expressarem quantidades abundantes de TLRs endossômicos específicos para ácido nucleico (TLRs 3, 7, 8, 9), bem como sensores citosólicos de RNA e de DNA, os quais reconhecem, todos, ácidos nucleicos presentes no interior das células. Mais adiante, ainda neste capítulo, discutiremos com mais detalhes as ações antivirais dos interferons do tipo I.

As reações das DCs aos microrganismos na resposta inata inicial intensificam a habilidade das DCs de ativar células T na resposta imune adaptativa subsequente. Além disso, dependendo da natureza do microrganismo indutor da resposta inata, uma DC direcionará a diferenciação da célula T *naive* para tipos distintos de células efetoras, como células Th1 produtoras de interferon-γ ou células Th17 produtoras de IL-17. Essas características das DCs serão discutidas adiante, ainda neste capítulo, e também nos Capítulos 6 e 10.

Células Linfoides Inatas Produtoras de Citocinas

As células linfoides inatas (ILCs, do inglês, *innate lymphoid cells*), que introduzimos no Capítulo 2, são células derivadas da medula óssea com morfologia de linfócito que foram descobertas como células produtoras de citocinas similares àquelas produzidas pelas células T, porém desprovidas de TCRs. Chamamos essas células de "células linfoides" e não de "linfócitos", porque não expressam receptores antigênicos diversificados clonalmente distribuídos como se observa nos linfócitos T com os quais se assemelham. Existem diferentes subpopulações de ILCs que surgem a partir do mesmo precursor linfoide que dá origem às células B e T, contudo as etapas precisas no desenvolvimento da ILC ainda não são totalmente conhecidas, sobretudo em seres humanos. Está claro que durante seu desenvolvimento, há pontos de ramificação originando três subpopulações distintas de ILCs "auxiliares", as quais atuam principalmente secretando diferentes tipos de citocinas, de modo similar às subpopulações de células T auxiliares $CD4^+$, e há também uma ramificação à parte que origina as células *natural killer* (NK), que atuam como efetores citotóxicos em adição à secreção da citocina interferon-γ, de modo similar aos linfócitos T citotóxicos $CD8^+$. Nesta seção, descreveremos as subpopulações de ILCs produtoras de citocina e, na próxima seção, serão descritas as células NK.

Três subpopulações de células linfoides inatas, chamadas ILC1, ILC2 e ILC3, produzem diferentes citocinas e expressam diferentes fatores de transcrição, de modo análogo às subpopulações Th1, Th2 e Th17 de linfócitos T CD4$^+$ (Fig. 4.8). As citocinas produzidas por cada subpopulação determinam os papéis dessas células na defesa, sendo necessários fatores de transcrição para a diferenciação e função de cada uma dessas três subpopulações. As ILC1 produzem IFN-γ e expressam o fator de transcrição T-bet, como as células Th1. As ILC2 produzem IL-5, IL-9 e IL-13, e expressam o fator de transcrição GATA-3, como as células Th2. As ILC3 produzem IL-22 e/ou IL-17 e expressam o fator de transcrição RORγt, como as células Th17. Como as ILCs não expressam receptores de célula T, devem ser ativadas por mecanismos diferentes daqueles que levam as células T auxiliares a produzirem estas citocinas. Os estímulos mais bem definidos para a produção de citocinas pelas ILCs são outras citocinas, liberadas no contexto de respostas inatas a infecções e dano tecidual; cada subpopulação de ILC é ativada por diferentes citocinas (Fig. 4.8).

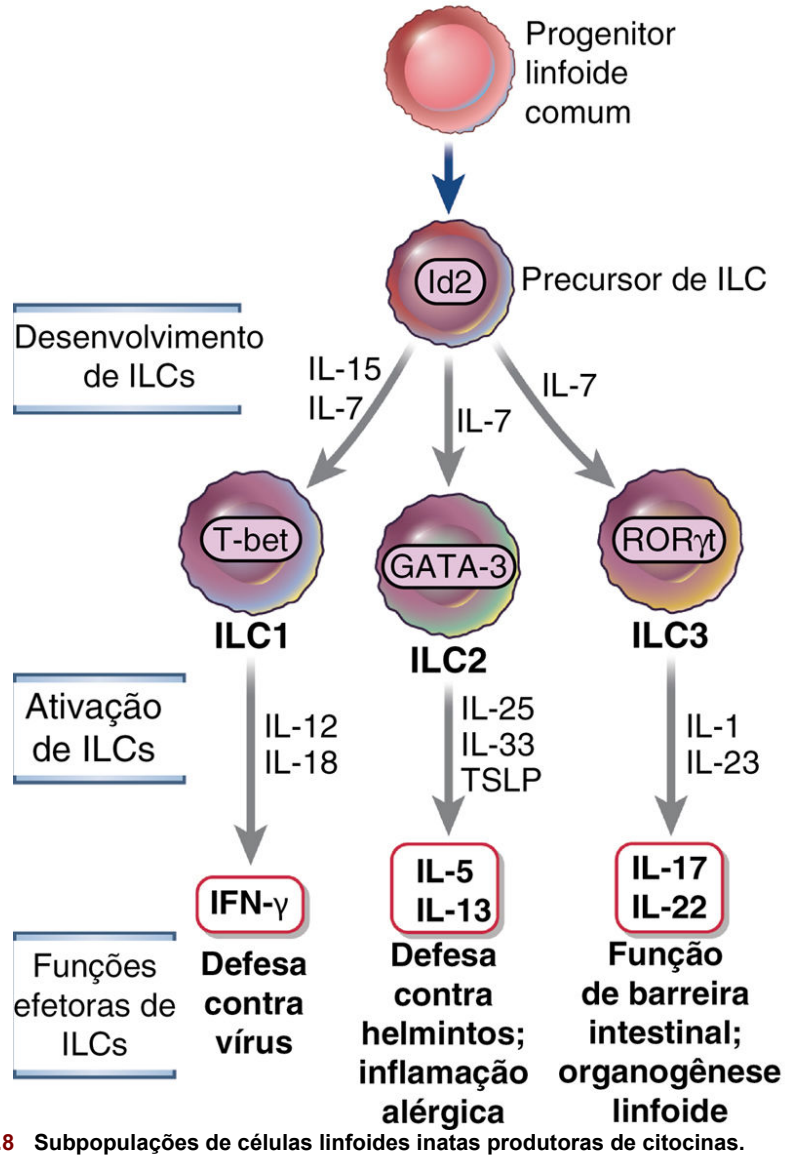


FIGURA 4.8 Subpopulações de células linfoides inatas produtoras de citocinas. As três subpopulações principais de células linfoides inatas (ILCs) produtoras de citocina se desenvolvem a partir do progenitor linfoide comum que também origina linfócitos B e T, bem como células NK (não mostrado). Um precursor comum de ILC identificado pelo fator de transcrição Id2 se diferencia nas três subpopulações principais de ILCs produtoras de citocina. Cada subpopulação diferenciada é distinguida pela expressão de fatores de transcrição distintos e pelas citocinas produzidas pelas células ativadas, conforme indicado. As citocinas que dirigem a diferenciação nas subpopulações de ILC1, 2 ou 3, bem como as citocinas que ativam as ILCs a produzirem seu próprio subconjunto de citocinas específicas, são mostradas. As principais funções conhecidas das ILCs também são indicadas. As citocinas indicadas em negrito são discutidas no Capítulo 10, no contexto de respostas de células T. As funções das outras citocinas mencionadas na figura são resumidas adiante, neste mesmo capítulo (Tabela 4.5), e todas essas citocinas são listadas no Apêndice I.

Subpopulações de ILC podem participar da defesa do hospedeiro contra patógenos distintos, e também podem estar envolvidas em distúrbios inflamatórios. As ILC1 tendem a ser importantes para a defesa contra microrganismos intracelulares. As ILC2 são importantes na defesa contra parasitas helmintos e também contribuem para as doenças alérgicas. As ILC3 são encontradas em sítios de mucosa e participam na defesa contra fungos e bactérias extracelulares, bem como na manutenção da integridade das barreiras epiteliais. As células indutoras de tecido linfoide (LTi, do inglês, *lymphocyte tissue-inducer*) constituem uma subpopulação de ILC3 que, além de secretarem IL-17 e IL-22, também

expressam a molécula de membrana linfotoxina-α e secretam TNF, ambas requeridas para o desenvolvimento normal de órgãos linfoides (Capítulo 2).

Tem sido difícil estabelecer a contribuição das ILCs para a defesa do hospedeiro, dada a impossibilidade de eliminar seletivamente essas células ou suas citocinas sem comprometer também os linfócitos T análogos. A característica das ILCs que as torna potencialmente importantes para a defesa inicial do hospedeiro é o fato de serem sempre células residentes nos tecidos de barreira epiteliais, preparadas para reagir contra os microrganismos que rompem estas barreiras. Em contraste, as células T circulam pelos órgãos linfoides secundários e migram para os tecidos somente depois de estarem ativados e de se diferenciarem em células efetoras, um processo que pode levar vários dias após o encontro com um microrganismo. Portanto, é possível que as ILCs sejam as células de resposta inicial aos microrganismos que colonizam tecidos e, com o passar do tempo, esse papel passa a ser assumido por células T efetoras diferenciadas, as quais são mais específicas e produzem quantidades maiores de citocinas.

Células *Natural Killer*

As células NK, muitas vezes consideradas as primeiras ILC conhecidas, são células citotóxicas que exercem papéis importantes nas respostas imunes inatas, principalmente contra vírus e bactérias intracelulares. A designação "*natural killer*" deriva do fato de sua principal função ser o *killing* de células infectadas, similarmente às células *killer* do sistema imune adaptativo, os linfócitos T citotóxicos (CTLs), além disso, estão sempre prontas para agir, uma vez desenvolvidas, na ausência de diferenciação adicional (portanto, natural). As células NK também secretam IFN-γ e às vezes são referidas como um tipo de ILC1. Diferente das ILCs produtoras de citocinas já discutidas, encontradas nos tecidos periféricos e raramente no sangue e órgãos linfoides, as células NK constituem 5-15% das células mononucleares presentes no sangue e no baço. São raras em outros órgãos linfoides, porém são mais abundantes em certos órgãos como o fígado e a placenta. As células NK no sangue aparecem como linfócitos grandes, contendo numerosos grânulos citoplasmáticos. As células NK não expressam os receptores antigênicos diversificados e clonalmente distribuídos típicos das células B e T. Em vez disso, usam receptores codificados por DNA de linhagem germinativa (discutido posteriormente) para distinguir entre células infectadas por patógeno e células sadias. Podem ser identificadas no sangue pela expressão de CD56 e ausência do marcador de célula T CD3. A maioria das células NK sanguíneas humanas também expressam CD16, que está envolvido no reconhecimento de células recobertas por anticorpos.

Funções das Células *Natural Killer*

As funções efetoras das células NK são matar células infectadas e produzir IFN-γ, que ativa macrófagos a destruírem microrganismos fagocitados (Fig. 4.9). O mecanismo da citotoxicidade mediada pela célula NK é essencialmente o mesmo da citotoxicidade mediada pelas CTLs $CD8^+$, que descreveremos em detalhes no Capítulo 11. As células NK, assim como as CTLs, têm grânulos contendo proteínas que medeiam o *killing* de células-alvo. Quando as células NK são ativadas, a exocitose dos grânulos libera essas proteínas nas adjacências das células-alvo. Uma das proteínas contidas nos grânulos da célula NK, chamada **perforina**, facilita a entrada de outras proteínas contidas nos grânulos, as chamadas **granzimas**, no citosol das células-alvo. As granzimas são enzimas proteolíticas que iniciam uma sequência de eventos de sinalização que causam a morte das células-alvo por apoptose. Matando as células infectadas por vírus e bactérias intracelulares, as células NK eliminam os reservatórios de infecção. No início do curso de uma infecção viral, as células NK são expandidas e ativadas pelo reconhecimento de ligantes ativadores presentes nas células infectadas, bem como pelas citocinas IL-12 e IL-15, e então matam as células infectadas antes de as CTLs antígeno-específicas poderem se tornar totalmente ativas, o que em geral demora 5-7 dias. As células NK também podem ser importantes mais adiante no curso da infecção viral, realizando o *killing* das células infectadas que, reduzindo a expressão de moléculas do complexo de histocompatibilidade principal (MHC, do inglês, *major histocompatibility complex*) de classe I, escaparam do imunoataque mediado pelas CTLs. Alguns tumores, especialmente aqueles de origem hematopoiética, são alvos de células NK, talvez porque as células tumorais não expressem os tipos nem os níveis normais de moléculas de MHC de classe I, inibindo, assim, a ativação da célula NK, conforme discutido adiante.

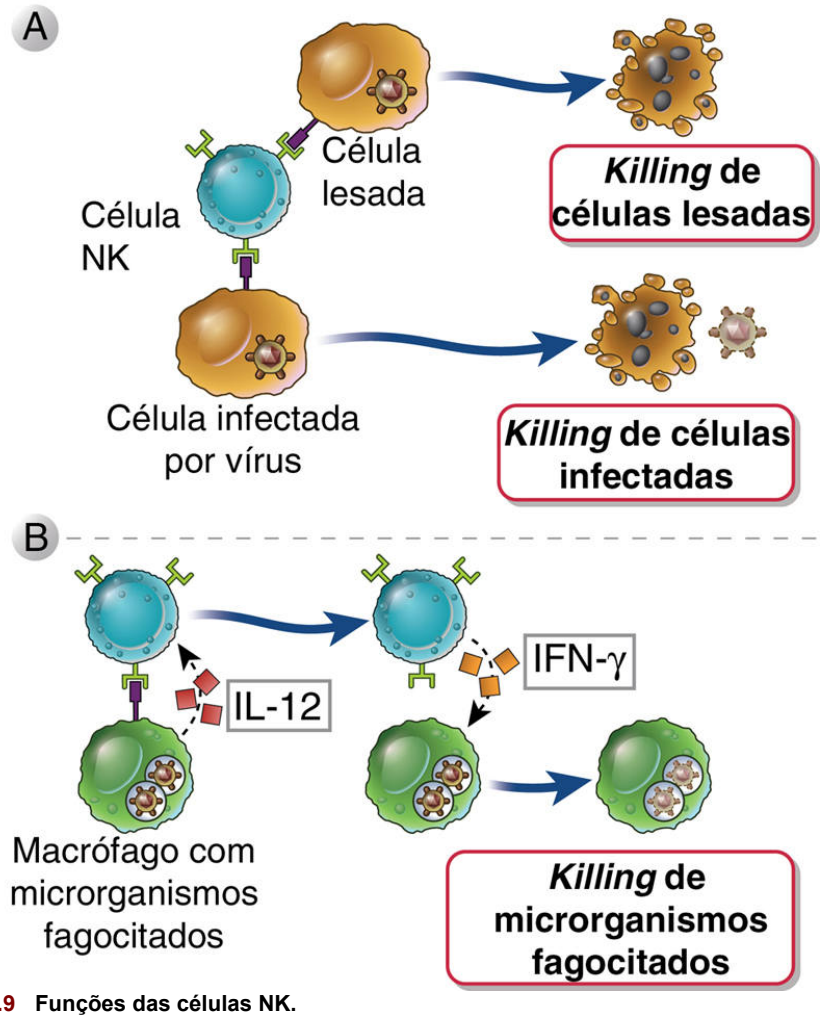


FIGURA 4.9 Funções das células NK.
A, As células NK reconhecem ligantes em células infectadas ou células submetidas a outros tipos de estresse, e matam células do hospedeiro. Desse modo, as células NK eliminam reservatórios de infecção e também células disfuncionais. **B,** As células NK respondem à IL-12 produzida por macrófagos e secretam IFN-γ que ativa os macrófagos para matarem os microrganismos fagocitados.

O IFN-γ derivado das células NK aumenta a capacidade dos macrófagos de matar bactérias fagocitadas, de modo similar ao IFN-γ produzido pelas células T (Capítulo 10). Essa interação célula NK-macrófago dependente de IFN-γ pode controlar uma infecção por bactérias intracelulares, como *Listeria monocytogenes*, durante vários dias ou semanas, propiciando o tempo necessário ao desenvolvimento da imunidade mediada por células T para erradicação da infecção. O IFN-γ produzido pelas células NK nos linfonodos também pode direcionar a diferenciação das células T *naive* em células Th1 (Capítulo 10). Algumas células NK humanas não expressam CD16 nem são citotóxicas, mas produzem IFN-γ em abundância. De modo previsível, a deficiência de células NK, raramente observada nos indivíduos, leva à suscetibilidade aumentada à infecção por alguns vírus e bactérias intracelulares.

Receptores de Ativação e de Inibição das Células *Natural Killer*

As células NK distinguem as células infectadas e estressadas das células sadias, e sua função é regulada pelo equilíbrio entre os sinais gerados a partir dos receptores de ativação e dos receptores de inibição. Esses receptores reconhecem moléculas presentes na superfície de outras células e geram sinais ativadores ou inibidores que promovem ou inibem as respostas NK. Os receptores de ativação estimulam proteínas quinases que fosforilam substratos de sinalização *downstream*, enquanto os receptores de inibição estimulam fosfatases que contrapõem as quinases. Em geral, os receptores

ativadores reconhecem ligantes em células infectadas e lesadas, enquanto os receptores inibidores reconhecem ligantes em células sadias normais (Fig. 4.10). Quando uma célula NK interage com outra célula, o resultado é determinado pela integração de sinais gerados a partir de uma gama de receptores de inibição e de ativação expressos pela célula NK e que interagem com ligantes presentes na outra célula. O engajamento dos receptores ativadores estimula a atividade de *killing* das células NK, resultando na destruição das células estressadas ou infectadas. Em contraste, o engajamento dos receptores inibidores "desliga" a atividade da célula NK e previne a destruição das células sadias. Devido à natureza estocástica de sua expressão, existe uma significativa diversidade no conjunto de receptores de ativação e de inibição expressos por células NK distintas em um mesmo indivíduo. O resultado disso é que as células NK individuais, mesmo quando em uma mesma pessoa, podem responder a diferentes tipos de microrganismos ou células infectadas.

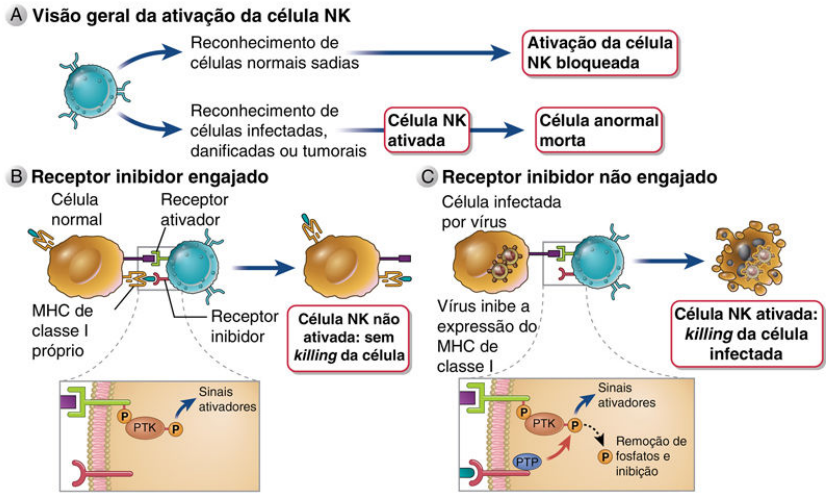


FIGURA 4.10 Funções de receptores de ativação e de inibição das células NK.
A, Visão geral da ativação das células NK. **B,** Receptores de ativação das células NK reconhecem ligantes em células-alvo e ativam proteínas tirosina quinases (PTKs), cujas atividades são inibidas por receptores de inibição que reconhecem moléculas do MHC de classe I e ativam proteínas tirosina fosfatases (PTP). As células NK não matam eficientemente as células sadias que expressam MHC de classe I. **C,** Se uma infecção viral ou outro estresse inibe a expressão do MHC de classe I em células infectadas e induz a expressão de ligantes ativadores adicionais, o receptor inibidor da célula NK não é engajado e o receptor ativador não encontra oposição para deflagrar as respostas das células NK, incluindo o *killing* de células-alvo e a secreção de citocinas. Além disso, as células estressadas por infecção ou transformação neoplásica podem expressar quantidades aumentadas de ligantes ativadores, os quais se ligam a receptores ativadores de célula NK e induzem mais fosforilação de tirosina que pode ser removida por fosfatases associadas ao receptor inibidor, resultando no *killing* das células estressadas (não mostrado). Os detalhes estruturais e ligantes dos receptores inibidores e ativadores da célula NK são mostrados na Figura. 4.9.

Os receptores de ativação nas células NK reconhecem um grupo heterogêneo de ligantes, alguns dos quais podem ser expressos em células normais e outros principalmente em células que sofreram estresse, células infectadas por microrganismos ou células neoplásicas (Fig. 4.11). Muitos receptores ativadores de célula NK são chamados **receptores de célula *killer* do tipo imunoglobulina (Ig) (KIRs, do inglês, *killer cell immunoglobulin-like receptors*)**, porque contêm um domínio estrutural denominado dobra de imunoglobulina (Ig), identificado pela primeira vez em moléculas de anticorpo (também conhecidas como Ig), discutido no Capítulo 5. Todas as proteínas com dobras de Ig são membros da superfamília das Igs. Um segundo grupo importante de receptores ativadores de NK pertence à família das lectinas tipo C, que são proteínas com propriedades de ligação a carboidrato similares aos CLRs discutidos anteriormente, neste mesmo capítulo. Um receptor ativador da célula NK bem estudado pertencente à família de lectinas tipo C é o NKG2D, que se liga a proteínas do tipo MHC de classe I, incluindo MIC-A e MIC-B, encontradas em células viralmente infectadas e células tumorais, porém ausentes nas células

normais. O receptor NKG2D se associa a um subunidade sinalizadora chamada DAP10, que tem funções de sinalização que estimulam a citotoxicidade da célula NK contra células-alvo.

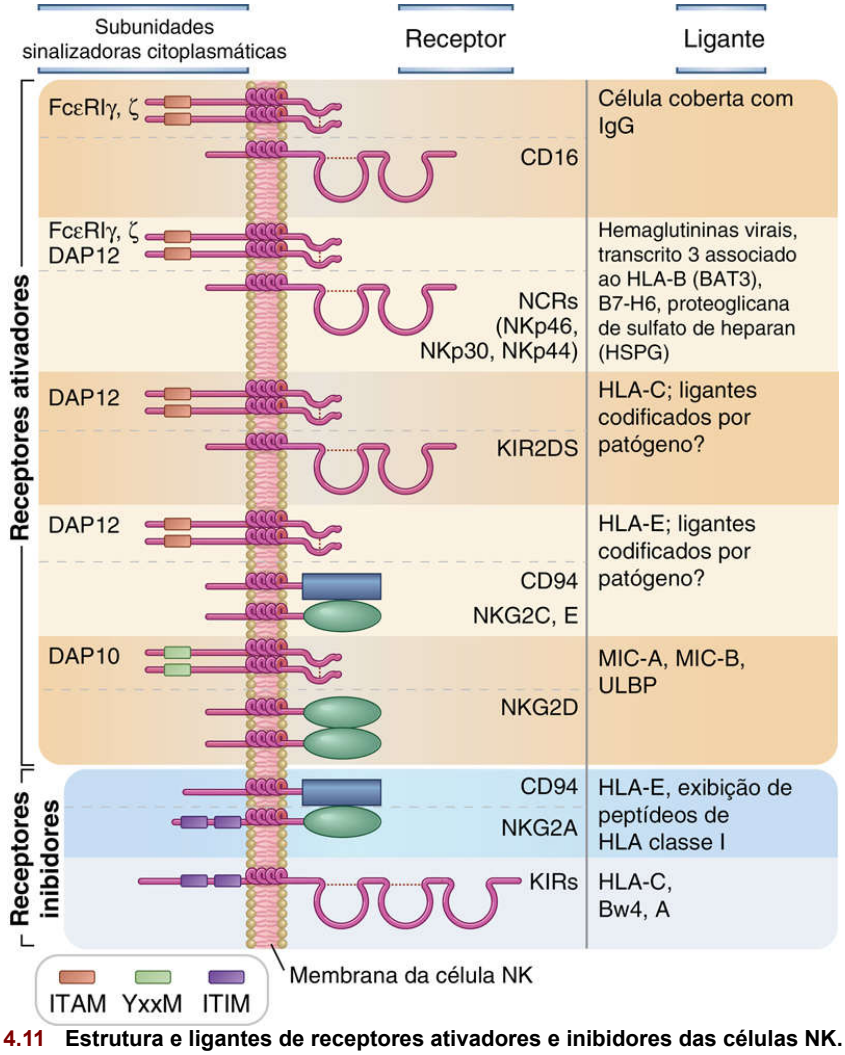


FIGURA 4.11 Estrutura e ligantes de receptores ativadores e inibidores das células NK. Os receptores ativadores e inibidores são indicados em negrito. CD16 e os NCRs estão associados com homodímeros de cadeia ζ, homodímeros FcεRIγ, ou heterodímeros ζ-FcεRIγ. Existem múltiplos KIRs diferentes, com especificidades de ligante distintas. *KIR*, receptores tipo imunoglobulina (Ig) da célula *killer*; *MIC*, sequência relacionada ao polipeptídeo MHC de classe I; *NCR*, receptor de citotoxicidade natural. *ULBP*, proteína ligante de UL-16.

Outro importante receptor de ativação presente nas células NK é o CD16 (FcγRIIIA), que é um receptor de baixa afinidade para anticorpos IgG. As moléculas de anticorpo têm extremidades de ligação ao antígeno altamente variáveis e, na extremidade oposta, têm uma porção invariável chamada região Fc, que interage com várias outras moléculas no sistema imune. Descreveremos em detalhes a estrutura dos anticorpos no Capítulo 5, mas agora basta saber que o CD16 se liga às regiões Fc de certos tipos de anticorpos chamados IgG1 e IgG3. O CD16 se associa a uma dentre três proteínas de sinalização (p. ex.: proteínas FcεRIγ, ζ e DAP12). Durante uma infecção, o sistema imune adaptativo produz anticorpos IgG1 e IgG3 que se ligam aos antígenos microbianos expressos na superfície das células infectadas, e o CD16 nas células NK pode se ligar às regiões Fc desses anticorpos. Como resultado, CD16 gera sinais de ativação, por meio de seus parceiros de sinalização associados, e as células NK matam as células infectadas que foram recobertas por moléculas de anticorpo. Esse processo é chamado

citotoxicidade celular dependente de anticorpo. Trata-se de uma função de imunidade adaptativa, a qual discutiremos no Capítulo 13, ao considerarmos a imunidade humoral.

Os receptores de inibição das células NK reconhecem moléculas do MHC de classe I, as quais são proteínas de superfície celular normalmente expressas em todas as células nucleadas sadias do corpo (Fig. 4.11). Uma das principais funções das moléculas de MHC de classe I, distinta de seu papel na regulação da ativação da célula NK, é exibir peptídeos derivados de proteínas citosólicas, inclusive proteínas microbianas, na superfície celular, para serem reconhecidas por linfócitos T $CD8^+$. Descreveremos a estrutura e função das moléculas de MHC em relação ao reconhecimento do antígeno pela célula T no Capítulo 6. Por enquanto, é importante saber que as células NK usam tipos de receptores fundamentalmente diferentes daqueles usados pelas células T no reconhecimento de moléculas do MHC de classe I. Esses receptores NK respondem ao reconhecimento das moléculas de MHC de classe I inibindo a ativação de NK. Isso é útil porque as células normais expressam moléculas de MHC de classe I, sendo que muitos vírus e outras causas de estresse celular levam à perda da expressão do MHC de classe I na superfície celular. Dessa forma, as células NK interpretam a presença de moléculas de MHC de classe I como marcadores do próprio normal e sadio, enquanto sua ausência é uma indicação de infecção ou dano. Como resultado, as células NK serão inibidas pelas células sadias, mas não receberão sinais inibidores de células infectadas ou estressadas. Ao mesmo tempo, as células NK tendem a receber sinais de ativação das células infectadas ou danificadas, por meio dos receptores de ativação. O resultado líquido será a ativação das células NK que então secretam citocinas e matam a célula infectada ou estressada. Essa habilidade das células NK de se tornarem ativadas pelas células do hospedeiro desprovidas de MHC de classe I foi chamada "reconhecimento do próprio ausente".

O maior grupo de receptores de inibição de NK pertence a mesma família KIR em que estão incluídos os receptores de ativação, como já discutido. Esses KIRs inibidores se ligam a várias moléculas de MHC de classe I diferentes. Outros receptores de inibição são as lectinas, como o heterodímero CD94/NKG2A, que reconhece uma molécula de MHC de classe I chamada HLA-E. É interessante notar que HLA-E exibe peptídeos derivados de outras moléculas de MHC classe I, de modo que CD94/NKG2A é um receptor de vigilância para várias moléculas de MHC de classe I diferentes.

Os receptores NK de ativação e de inibição contêm motivos estruturais em suas caudas citoplasmáticas que engajam vias de sinalização promotoras ou inibidoras, respectivamente, do **killing** ***da célula-alvo e da secreção de citocinas*** (Figs. 4.10 e 4.11). Os receptores ativadores têm **motivos de ativação com base na tirosina do imunorreceptor (ITAMs, do inglês, *immunoreceptor tyrosine-based activation motifs*)**, os quais contêm resíduos de tirosina que são fosforilados por quinases citoplasmáticas após a ligação dos ligantes aos seus receptores. Outras proteínas quinases são recrutadas para os ITAMs modificados e são ativadas, e essas quinases contribuem para a sinalização adicional via fosforilação de outras proteínas, levando eventualmente à atividade citotóxica e à secreção de citocinas. Os ITAMs também são encontrados nas caudas citoplasmáticas de outros receptores sinalizadores no sistema imune, incluindo os complexos receptores antigênicos das células T e B, cuja estrutura e funções de sinalização serão discutidas com mais detalhes no Capítulo 7. Em alguns receptores ativadores, uma única cadeia polipeptídica contêm o ITAM citoplasmático, bem como a porção extracelular de ligação ao ligante. Em outros receptores, os ITAMs estão em cadeias polipeptídicas separadas, como FcεRIγ, ζ e DAP12, que não se ligam a ligantes, mas estão associadas de modo não covalente às cadeias de ligação ao ligante (Fig. 4.10).

Os receptores inibitórios das células NK têm **motivos de inibição baseados na tirosina do imunorreceptor (ITIMs, do inglês, *immunoreceptor tyrosine-based inhibition motifs*)**, que engajam moléculas bloqueadoras das vias de sinalização dos receptores de ativação (Figs. 4.10 e 4.11). Os ITIMs contêm resíduos de tirosina que são fosforilados com a ligação do ligante ao receptor de inibição e atuam como sítios de ancoragem para o recrutamento e ativação de fosfatases, as quais removem fosfatos de várias proteínas sinalizadoras ou lipídeos gerados pela sinalização *downstream* dos receptores de ativação de NK. O resultado final é o bloqueio das funções de sinalização dos receptores de ativação. Os ITIMs também são encontrados nas caudas citoplasmáticas de outros receptores, além dos receptores inibidores NK, e discutiremos de forma mais detalhada sua estrutura e funções de sinalização no Capítulo 7.

Os genes *KIR* são polimórficos, implicando a existência de diversas variantes alélicas na população humana. Como resultado, um indivíduo pode expressar receptores diferentes daqueles expressos por outro indivíduo. Grupos de alelos KIR frequentemente são todos herdados de apenas um dos pais. Esses grupos de genes herdados de maneira ligada (em conjunto) são chamados *haplótipos KIR*. Existem

dois haplótipos *KIR* principais e alguns outros mais raros. Os haplótipos diferem quanto ao número de receptores codificados e alguns têm mais ou menos receptores de ativação do que outros. Alguns haplótipos estão associados à suscetibilidade aumentada a certas doenças, incluindo o aborto espontâneo e um tipo de inflamação ocular chamada uveíte.

As ***citocinas podem intensificar as respostas funcionais das células NK.*** As principais citocinas do sistema imune inato que estimulam a função NK são a IL-12, IL-15, IL-18 e os interferons do tipo I (discutidos adiante). Cada uma dessas citocinas intensifica a atividade citotóxica das células NK e todas podem estimular a secreção de IFN-γ pelas células NK independentemente dos receptores de ativação. Adicionalmente, a IL-15 é um importante fator de crescimento para células NK.

Linfócitos T e B com Diversidade Limitada de Receptor Antigênico

Conforme discutiremos de forma mais detalhada em capítulos subsequentes, a maioria dos linfócitos T e B são componentes do sistema imune adaptativo e são caracterizados por um repertório altamente diversificado de especificidades para diferentes antígenos. Entretanto, certas populações pequenas de linfócitos expressam receptores antigênicos estruturalmente iguais àqueles das células T e B, contudo esses receptores exibem pouquíssima diversidade. Essas subpopulações de células T e B podem reconhecer estruturas expressas por muitas espécies microbianas diferentes ou comumente encontradas. Entre as células T com diversidade limitada de receptor antigênico, estão as células T *natural killer* invariantes (iNKT, do inglês, *invariant natural killer T cells*), células T γδ, células T invariantes associadas à mucosa (MAIT, do inglês, *mucosa-associated invariant T cells*) e células T intraepiteliais com TCRs αβ (já mencionadas). As subpopulações de células B que produzem anticorpos com um conjunto limitado de especificidades incluem as células B-1 e as células B da zona marginal. Embora essas células T e B desempenhem funções similares àquelas exercidas por suas contrapartes clonalmente mais diversificadas, a natureza de suas especificidades as coloca em uma categoria especial de linfócitos que são mais próximos das células da imunidade inata do que das células da imunidade adaptativa. Essas subpopulações especiais de células T e B são descritas nos Capítulos 10 e 12, respectivamente.

Mastócitos

Os mastócitos são células sentinelas presentes na pele, epitélio de mucosa e tecidos conectivos que rapidamente secretam citocinas pró-inflamatórias e mediadores lipídicos em resposta à infecção e outros estímulos. Os mastócitos foram introduzidos no Capítulo 2. Lembre que essas células contêm grânulos citoplasmáticos abundantes repletos de vários mediadores inflamatórios que são liberados quando as células são ativadas, seja por produtos microbianos ou por um mecanismo especial dependente de anticorpo. Os conteúdos dos grânulos incluem aminas vasoativas (como a histamina) causadoras de vasodilatação e permeabilidade capilar aumentada, bem como enzimas proteolíticas capazes de matar bactérias ou inativar toxinas microbianas. Os mastócitos também sintetizam e secretam mediadores lipídicos (como as prostaglandinas) e citocinas (como o TNF). Como os mastócitos geralmente estão localizados nas adjacências dos vasos sanguíneos (Fig. 2.1B), seus conteúdos de grânulos liberados rapidamente induzem alterações nos vasos sanguíneos que promovem inflamação aguda. Os mastócitos expressam TLRs, e os ligantes de TLR podem induzir a desgranulação do mastócito. Os camundongos deficientes de mastócitos exibem comprometimento do controle de infecções bacterianas, provavelmente devido às respostas imunes inatas defeituosas. Os produtos dos mastócitos também conferem defesa contra helmintos e são responsáveis pelos sintomas das doenças alérgicas. Retomaremos a uma discussão detalhada sobre os mastócitos no contexto das doenças alérgicas no Capítulo 20.

Moléculas Efetoras Solúveis de Imunidade Inata

Vários tipos de moléculas que reconhecem microrganismos e promovem respostas inatas existem na forma solúvel no sangue e nos fluidos extracelulares. Essas moléculas conferem a defesa inicial contra os patógenos que entram na circulação ou que estão presentes fora das células do hospedeiro em algum estágio de seu ciclo de vida. As moléculas efetoras solúveis atuam de duas formas:

- Ligando-se aos microrganismos, quando então atuam como **opsoninas** e intensificam a capacidade dos macrófagos e neutrófilos de fagocitar estes microrganismos. Isso ocorre porque as células fagocíticas expressam receptores de membrana específicos para opsoninas, os quais medeiam eficientemente a internalização do complexo formado pela opsonina e o microrganismo ligado, e a subsequente destruição do microrganismo ingerido.
- Após a ligação aos microrganismos, os mediadores solúveis de imunidade inata promovem respostas pró-inflamatórias que trazem mais fagócitos para os sítios de infecção, os quais também podem matar diretamente os microrganismos.

As moléculas efetoras solúveis às vezes são chamadas de ramo humoral da imunidade inata, análogo ao ramo humoral da imunidade adaptativa mediada por anticorpos. Os principais componentes do sistema imune inato humoral são o sistema complemento, as colectinas, as pentraxinas e as ficolinas, os quais são descritos a seguir.

O Sistema Complemento

O sistema complemento consiste em várias proteínas plasmáticas que trabalham conjuntamente na opsonização de microrganismos, promoção de recrutamento de fagócitos para o sítio de infecção e, em alguns casos, na destruição direta dos microrganismos (Fig. 4.12). A ativação do complemento envolve cascatas proteolíticas em que a enzima precursora inativa, chamada zimogênio, é modificada para se tornar uma protease ativa que cliva e, assim, induz a atividade proteolítica da próxima proteína do complemento na cascata. As cascatas enzimáticas resultam em uma tremenda amplificação da quantidade de produtos proteolíticos gerados em cada etapa. Esses produtos exercem as funções efetoras do sistema complemento. Além do sistema complemento, outras cascatas proteolíticas de importância médica incluem as vias de coagulação sanguínea e o sistema cinina-calicreína que regula a permeabilidade vascular.

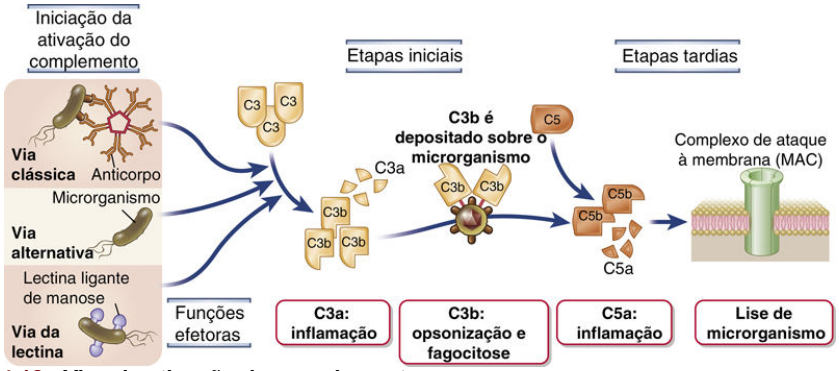


FIGURA 4.12 Vias de ativação do complemento.
A ativação do sistema complemento pode ser iniciada por três vias distintas, todas levando à produção de C3a, que estimula inflamação, e C3b (etapas iniciais). O C3b inicia as etapas tardias da ativação do complemento, culminando na produção de peptídeos que também estimulam a inflamação (C5a), e C9 polimerizado, que forma o complexo de ataque à membrana, assim denominado por criar "furos" nas membranas plasmáticas (etapas tardias). As principais funções de proteínas relevantes produzidas em diferentes etapas são mostradas. A ativação, funções e regulação do sistema complemento são discutidas de forma bem mais detalhada no Capítulo 13.

A primeira etapa na ativação do sistema complemento é o reconhecimento de moléculas em superfícies microbianas e não em células do hospedeiro, e isso se dá de três formas, cada uma das quais referida como uma via distinta de ativação do complemento.

- A **via clássica**, assim denominada por ter sido descoberta primeiro, usa uma proteína plasmática denominada C1q para detectar anticorpos ligados à superfície de um microrganismo ou outra estrutura (Fig. 4.11). Uma vez que C1q se liga à porção Fc dos anticorpos, duas serinas proteases associadas, chamadas C1r e C1s, são ativadas e iniciam uma cascata proteolítica envolvendo outras proteínas do complemento. A via clássica é um dos principais mecanismos efetores do ramo humoral das respostas imunes adaptativas (Capítulo 13). As proteínas solúveis do sistema imune inato chamadas pentraxinas, discutidas posteriormente, também podem se ligar ao C1q e iniciar a via clássica.
- A **via alternativa**, que foi descoberta mais tarde embora seja filogeneticamente mais antiga do que a via clássica, é deflagrada quando uma proteína do complemento chamada C3 reconhece diretamente certas estruturas presentes na superfície microbiana, como o LPS bacteriano. O C3 também é constitutivamente ativado em solução, em níveis baixos, e se liga às superfícies celulares, mas então é inibido por moléculas reguladoras presentes nas células dos mamíferos. Como os microrganismos não têm essas moléculas reguladoras, a ativação espontânea pode ser amplificada nas superfícies microbianas. Assim, essa via consegue distinguir entre o próprio normal e os microrganismos estranhos, com base na presença ou ausência das proteínas reguladoras.
- A **via da lectina** é deflagrada por uma proteína plasmática chamada lectina ligante de manose (MBL, do inglês, mannose-binding lectina), a qual reconhece resíduos de manose terminais em glicolipídeos e glicoproteínas microbianas, de modo similar ao receptor de manose presentes nos fagócitos descrito anteriormente (Fig. 4.12). A MBL é um membro da família da colectina (discutida adiante) e tem uma estrutura hexamérica semelhante a do componente C1q do sistema complemento. Depois que a MBL se liga aos microrganismos, dois zimogênios chamados MASP1 (do inglês, *mannose-associated serine protease 1* ou *mannan-binding lectin-associated serine protease*) e MASP2, com funções similares as de C1r e C1s, associam-se à MBL e iniciam etapas proteolíticas *downstream* idênticas às da via clássica.

O reconhecimento de microrganismos por qualquer uma das três vias do complemento resulta no recrutamento e montagem sequencial de proteínas adicionais do complemento em complexos protease (Fig. 4.12). Um desses complexos, chamado **C3 convertase**, cliva a proteína central do sistema complemento, **C3**, produzindo C3a e C3b. O fragmento maior C3b se fixa covalentemente à superfície microbiana, onde a via do complemento foi ativada. A atividade enzimática sequencial das proteínas do

complemento promove uma amplificação tão tremenda que milhões de moléculas C3b podem se depositar na superfície de um microrganismo em 2-3 minutos! C3b atua como uma opsonina para promover fagocitose de microrganismos. O fragmento menor, C3a, é liberado e estimula a inflamação atuando como agente quimiotático para neutrófilos, induzindo a desgranulação de mastócitos e aumentando diretamente a permeabilidade vascular, de modo a permitir o extravasamento de proteínas e fluido plasmáticos para os sítios de infecção. C3b se liga a outras proteínas do complemento para formar uma protease chamada **C5 convertase**, que cliva C5 gerando um peptídeo liberado (C5a) e um fragmento maior (C5b) que permanece ligado às membranas celulares microbianas. C5a exerce os mesmos efeitos pró-inflamatórios de C3a e é mais potente. C5b inicia a formação de um complexo com as proteínas C6, C7, C8 e C9 do complemento, as quais são montadas em um poro de membrana denominado **complexo de ataque à membrana** (MAC, do inglês, *membrane attack complex*). O MAC causa lise das células em que o complemento é ativado.

O sistema complemento é um componente essencial da imunidade inata e pacientes com deficiências em C3 são altamente suscetíveis a infecções bacterianas recorrentes, frequentemente letais. Deficiências genéticas na formação do MAC (o produto terminal da via clássica) aumentam a suscetibilidade a apenas um número limitado de microrganismos, notavelmente as bactérias do gênero*Neisseria*, cujas paredes celulares delgadas as tornam especialmente suscetíveis à ação lítica do MAC. Discutiremos o sistema complemento em maiores detalhes no Capítulo 13.

Pentraxinas

Várias proteínas plasmáticas que reconhecem estruturas microbianas e participam na imunidade inata pertencem à família das pentraxinas, a qual é um grupo filogeneticamente antigo de proteínas pentaméricas estruturalmente homólogas. Entre os membros proeminentes dessa família, estão a pentraxinas curtas, proteína C reativa (CRP, do inglês, *C-reactive protein*) e o amiloide P sérico (SAP, do inglês, *serum amyloid P*), além da pentraxina longa PTX3. Ambas, CRP e SAP, ligam-se a várias espécies diferentes de bactérias e fungos. Os ligantes moleculares reconhecidos pela CRP e SAP são a fosforilcolina e a fosfatidiletanolamina, respectivamente, que são encontradas nas membranas bacterianas e se tornam expostas nas células apoptóticas. CRP, SAP e PTX3 ativam o complemento ao se ligarem a C1q e iniciarem a via clássica.

As concentrações plasmáticas de CRP são muito baixas em indivíduos sadios, mas podem atingir níveis até 1.000 vezes maiores durante as infecções e em resposta a outros estímulos inflamatórios. Os níveis aumentados de CRP resultam da síntese hepática aumentada induzida pelas citocinas IL-6 e IL-1, produzidas por fagócitos e DCs como parte da resposta imune inata. A síntese no fígado e os níveis plasmáticos de várias outras proteínas, incluindo SAP e algumas não relacionadas às pentraxinas, também aumentam em resposta à IL-1 e à IL-6. Todas essas proteínas plasmáticas são chamadas **reagentes de fase aguda**, por estarem elevados no sangue durante as reações inflamatórias agudas, e sua produção aumentada é parte da **resposta de fase aguda** à infecção e outras agressões.

A PTX3 é produzida por vários tipos celulares, incluindo as DCs, macrófagos e células endoteliais, em reposta a ligantes de TLR e citocinas inflamatórias, como TNF, podendo ser considerada um reagente de fase aguda. A PTX3 também é armazenada nos grânulos dos neutrófilos e liberada quando estes morrem. A PTX3 reconhece várias moléculas presentes em fungos, certas bactérias e vírus, bem como em células apoptóticas, e ativa a via clássica do complemento. Estudos com camundongos *knockout* revelam que a PTX3 confere proteção contra esses microrganismos, incluindo o fungo *Aspergillus fumigatus* e o vírus influenza.

Colectinas e Ficolinas

As **colectinas** são uma família de proteínas triméricas ou hexaméricas, cujas subunidades contêm, individualmente, uma cauda do tipo colágeno conectada por uma região ístmica a uma cabeça de lectina cálcio-dependente (tipo C). Três membros dessa família atuam como moléculas efetoras solúveis no sistema imune inato: lectina ligante de manose (MBL) e as proteínas surfactantes pulmonares SP-A e SP-D.

A MBL, um receptor solúvel de reconhecimento de padrão que se liga a carboidratos contendo manose e fucose terminais, foi discutida anteriormente quanto à via da lectina de ativação do complemento (Fig. 4.13). A MBL também atua como uma opsonina ligando-se e intensificando a

fagocitose de microrganismos. Lembre que as opsoninas se ligam simultaneamente a microrganismos e a um receptor de superfície presente nas membranas do fagócito, sendo que no caso da MBL, o receptor de superfície é chamado receptor de C1q, porque também se liga ao C1q. Esse receptor medeia a internalização de microrganismos opsonizados pela MBL. O gene codificador da MBL é polimórfico e certos alelos estão associados à formação comprometida do hexâmero e a níveis sanguíneos reduzidos. Níveis baixos de MBL resultam em suscetibilidade aumentada a várias infecções, especialmente em indivíduos com outros defeitos imunes.

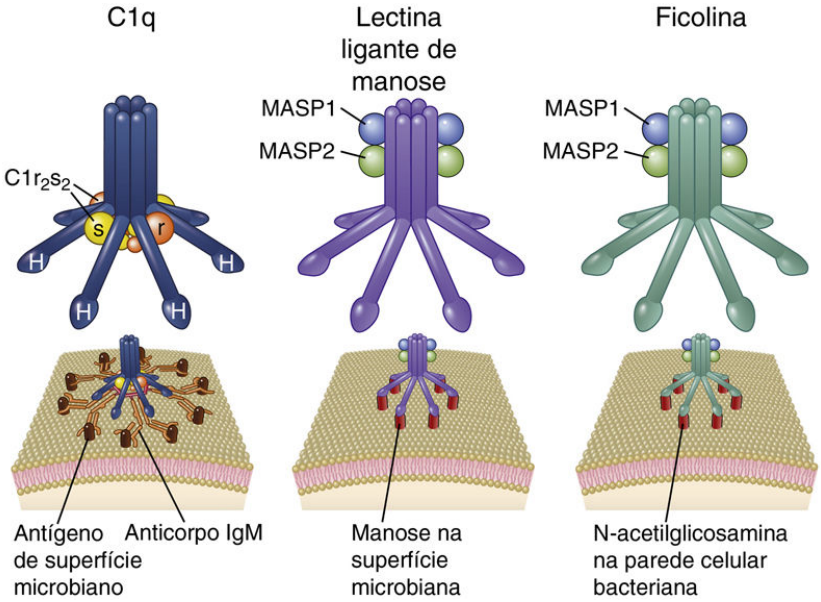


FIGURA 4.13 C1, lectina ligante de manose e ficolina.
Essas três proteínas hexaméricas homólogas são capazes de iniciar a ativação do complemento se ligando aos seus ligantes nas superfícies celulares. As cabeças (C) globulares do tipo lectina tipo C na extremidade das hastes do tipo colagenosas em C1q, bem como as proteínas lectina ligante de manose, ligam-se às regiões Fc de IgM ou à manose na superfície de microrganismos, respectivamente. As cabeças globulares do tipo fibrinogênio na ficolina se ligam à *N*-acetilglicosamina na superfície dos microrganismos. A ligação resulta em alterações conformacionais que ativam a atividade de serina protease de C1r e C1s, associada com C1q, ou MASP1 e MASP2, associada com a lectina ligante de manose e à ficolina.

A proteína **surfactante** A (SP-A) e a proteína do surfactante D (SP-D) são colectinas com propriedades lipofílicas compartilhadas por outros surfactantes. São encontradas nos alvéolos pulmonares e suas principais funções são manter a capacidade de expansão dos alvéolos durante a inalação, por meio da redução da tensão superficial do fluido alveolar, e atuar como mediadores de respostas imunes inatas no pulmão. Ligam-se a vários microrganismos e atuam como opsoninas, facilitando a ingesta pelos macrófagos alveolares. SP-A e SP-D também podem inibir diretamente o crescimento bacteriano e podem ativar macrófagos. Camundongos deficientes em SP-A e SP-D exibem comprometimento da capacidade de resistir a uma variedade de infecções pulmonares.

As **ficolinas** são proteínas plasmáticas estruturalmente similares às colectinas. Elas possuem um domínio do tipo colágeno mas, em vez de um domínio lectina tipo C, contêm um domínio de reconhecimento de carboidrato do tipo fibrinogênio (Fig. 4.13). Foi demonstrado que as ficolinas se ligam a várias espécies de bactérias, opsonizando-as e ativando o complemento de modo similar ao observado com a MBL. Os ligantes moleculares das ficolinas incluem a *N*-acetilglicosamina e o componente ácido lipoteicoico das paredes celulares de bactérias Gram-positivas.

Agora que discutimos as propriedades gerais e diversos componentes do sistema imune inato, incluindo as células, receptores de reconhecimento de patógenos celulares e moléculas efetoras solúveis, podemos considerar como esses vários componentes trabalham conferindo proteção contra os

patógenos. Os três mecanismos principais pelos quais o sistema imune inato protege contra as infecções são a indução de inflamação, indução de defesa antiviral e estimulação da imunidade adaptativa.

A Resposta Inflamatória

O principal meio usado pelo sistema imune inato para lidar com infecções e lesão tecidual é estimular a inflamação aguda, que consiste no acúmulo de leucócitos, proteínas plasmáticas e líquido derivado do sangue em um sítio de infecção ou lesão tecidual extravascular. Os leucócitos e proteínas plasmáticas, essenciais para a defesa inata contra microrganismos, normalmente circulam no sangue e são recrutados para os sítios de infecção e lesão, onde desempenham as funções efetoras que matam microrganismos e iniciam o reparo do tecido danificado. Tipicamente, o primeiro leucócito a ser recrutado do sangue para os sítios de inflamação é o neutrófilo, por ser o leucócito mais abundante no sangue e aquele que responde mais rápido aos sinais quimiotáticos. Os monócitos sanguíneos, que se transformam em macrófagos no tecido, tornam-se cada vez mais proeminentes com o passar do tempo e podem formar a população dominante em algumas reações. Entre as proteínas plasmáticas importantes que entram nos sítios inflamatórios, estão as proteínas do complemento, os anticorpos e os reagentes de fase aguda.

A distribuição de células e proteínas ao sítio inflamatório depende de alterações reversíveis que ocorrem nos vasos sanguíneos junto ao tecido infectado ou lesado. Essas alterações incluem fluxo sanguíneo aumentado para o tecido, decorrente de vasodilatação; aumento da aderência dos leucócitos circulantes ao revestimento endotelial das vênulas (Capítulo 3); e permeabilidade aumentada dos capilares e vênulas aos fluidos e proteínas plasmáticas. Todas essas alterações são induzidas por citocinas e pequenas moléculas mediadoras inicialmente derivadas de células sentinela residentes no tecido, como mastócitos, macrófagos, DCs e células endoteliais, em resposta à estimulação por PAMPs e DAMPs. À medida que o processo inflamatório se desenvolve, os mediadores podem ser derivados dos leucócitos recém-chegados e ativados, bem como de proteínas do complemento.

A inflamação aguda pode se desenvolver em questão de minutos a horas e durar dias. A inflamação crônica é um processo que passa a assumir o controle a partir da inflamação aguda, quando a infecção não é eliminada ou a lesão tecidual é prolongada. Em geral, envolve o recrutamento e ativação de monócitos e linfócitos. Os sítios de inflamação crônica frequentemente também sofrem remodelamento tecidual, com angiogênese e fibrose. Embora estímulos imunes inatos possam contribuir para a inflamação crônica, também pode haver envolvimento do sistema imune adaptativo, porque as citocinas produzidas pelas células T são potentes indutores de inflamação (Capítulo 10). Descrições detalhadas dos vários mediadores e manifestações patológicas de inflamação aguda e crônica podem ser encontradas em livros-texto de patologia. A nossa discussão enfocará aspectos particulares do processo inflamatório agudo que têm ampla relevância para as imunidades inata e adaptativa, bem como para as doenças inflamatórias imunomediadas.

Principais Citocinas Pró-inflamatórias da Imunidade Inata

Uma das primeiras respostas do sistema imune inato à infecção e à lesão tecidual é a secreção de citocinas pelas células teciduais — evento decisivo para a resposta inflamatória aguda. As citocinas da imunidade inata têm algumas propriedades gerais e funções importantes (Tabela 4.5):

- São produzidas principalmente por macrófagos e DCs teciduais, embora outros tipos celulares, incluindo os mastócitos, células endoteliais e algumas células epiteliais, também possam produzí-las.
- A maioria dessas citocinas atua sobre as células que estão próximas à célula de origem (ação parácrina). Em algumas infecções graves, uma quantidade suficiente de citocinas pode ser produzida, de modo que quantidades significativas entram na circulação e atuam a distância (ação endócrina).
- Diferentes citocinas têm ações similares ou sobrepostas, ou são funcionalmente singulares. Uma citocina pode estimular a produção de outras, estabelecendo cascatas que amplificam a reação ou induzem novas reações.
- As citocinas da imunidade inata exercem vários papéis: indução de inflamação, inibição da replicação viral, promoção de respostas de célula T e limitação das respostas imunes inatas. Essas funções são descritas a seguir e em partes subsequentes deste capítulo.
- Muitas citocinas produzidas por células imunes inatas, como TNF, IL-17, IL-5 e IFN-γ, também são produzidas por linfócitos T em respostas imunes adaptativas.

Tabela 4.5

Citocinas da Imunidade Inata

Citocina	Tamanho	Principal Fonte Celular	Principais Alvos Celulares e Efeitos Biológicos
TNF	17 kDa; homotrímero de 51 kDa	Macrófagos, células T	Células endoteliais: ativação (inflamação, coagulação) Neutrófilos: ativação Hipotálamo: febre Músculo, tecido adiposo: catabolismo (caquexia) Muitos tipos celulares: apoptose
IL-1	Forma madura de 17 kDa; precursores de 33 kDa	Macrófagos, células endoteliais, células T, fibroblastos, plaquetas	Células endoteliais: ativação (inflamação, coagulação) Hipotálamo: febre Fígado: síntese de proteínas de fase aguda Células T: diferenciação de Th17
Quimiocinas (Tabela 3.2)	8-12 kDa	Macrófagos, células endoteliais, células T, fibroblastos, plaquetas	Leucócitos: quimiotaxia, ativação, migração para os tecidos
IL-12	Heterodímero de subunidades de 35 kDa e 40 kDa	Macrófagos, DCs	Células T: diferenciação de Th1 Células NK e células T: síntese de IFN-γ, atividade citotóxica aumentada
Interferons do tipo I (IFN-α, IFN-β)	IFN-α:15-21 kDa IFN-β: 20-25 kDa	IFN-α:macrófagos, DCs plasmacitoides IFN-β: fibroblastos	Todas as células: estado antiviral, expressão aumentada de MHC de classe I Células NK: ativação
IL-10	Homodímero de subunidades de 34-40 kDa e 18 kDa	Macrófagos, células T (principalmente, células T reguladoras)	Macrófagos, DCs: inibição da expressão de IL-12, coestimuladores e moléculas de MHC classe II
IL-6	19-26 kDa	Macrófagos, células endoteliais, células T	Fígado: síntese de proteínas de fase aguda Células B: proliferação de células produtoras de anticorpo Células T: diferenciação de Th17
IL-15	13 kDa	Macrófagos, outras	Células NK: proliferação Células T: proliferação (células $CD8^+$ de memória)
IL-18	17 kDa	Macrófagos	Células NK e células T: síntese de IFN-γ
IL-23	Heterodímero de uma única subunidade de 19 kDa, e uma subunidade de IL-12 de 40 kDa	Macrófagos, DCs	Células T: manutenção de células T produtoras de IL-17
IL-27	Heterodímero de subunidades de 28 kDa e 13 kDa	Macrófagos, DCs	Células T: diferenciação Th1; inibição de células Th17 Células NK: síntese de IFN-γ

DC, células dendríticas; *MHC*, complexo principal de histocompatibilidade; *IFN*, interferon; *IL*, interleucina; *TNF*, fator de necrose tumoral. (Apêndice I.)

Três das citocinas pró-inflamatórias mais importantes do sistema imune inato são: TNF, IL-1 (ambas já mencionadas várias vezes) e IL-6. Discutiremos as principais características dessas citocinas, enfocando principalmente o TNF e a IL-1, antes de descrever seus papéis na inflamação aguda.

Fator de Necrose Tumoral

O TNF é um mediador da resposta inflamatória aguda a bactérias e outros microrganismos infecciosos. O nome dessa citocina deriva de sua identificação original como uma substância sérica (fator) causadora de necrose em tumores, hoje sabidamente resultante da inflamação e trombose de vasos sanguíneos tumorais. O TNF também é chamado TNF-α como forma de distingui-lo de uma molécula estreitamente relacionada, o TNF-β, que também é chamado linfotoxina. O TNF é produzido principalmente por

macrófagos e DCs, entre outros tipos celulares. Em macrófagos, é sintetizado como uma proteína homotrimérica de membrana do tipo II não glicosilada, que consegue se ligar a uma forma do receptor de TNF. A forma de membrana do TNF é clivada por uma metaloproteinase membrana-associada, liberando um fragmento polipeptídico, e três dessas cadeias polipeptídicas polimerizam para formar uma proteína TNF circulante, em forma de pirâmide triangular (Fig. 4.14). Os sítios de ligação do receptor estão na base da pirâmide, permitindo a ligação simultânea da citocina a três moléculas de receptor. O TNF-α é membro de uma ampla família de proteínas homólogas chamada superfamília do TNF, em que todas as proteínas compartilham a característica de formarem homotrímeros (Apêndice I).

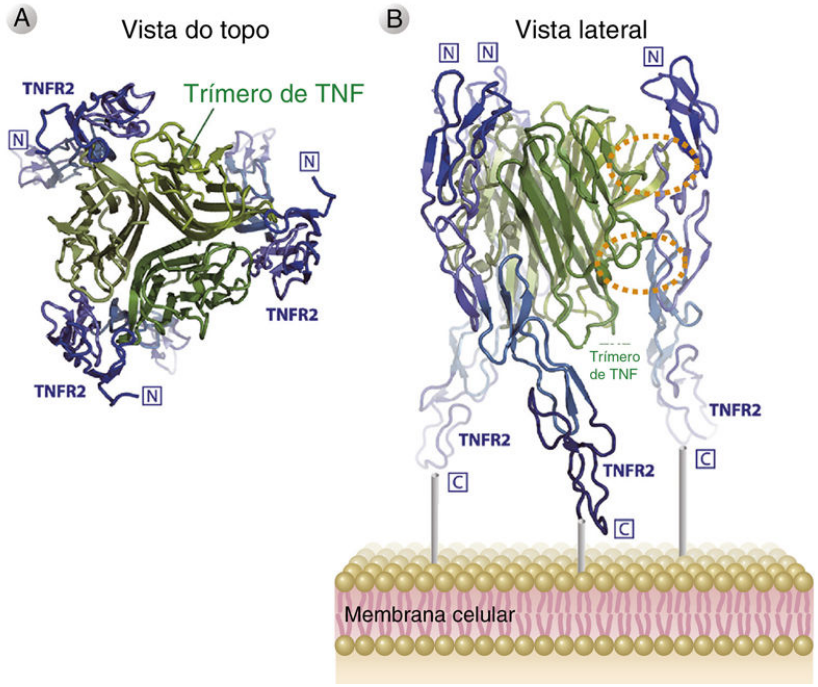


FIGURA 4.14 Estrutura do receptor de TNF ligado ao TNF.
A estrutura em fita ilustra uma vista do topo **(A)** e uma vista lateral **(B)** de um complexo de três receptores de TNF tipo 2 (TNF-R2) e uma molécula de TNF trimérica ligada, revelada por cristalografia de raio X. As três moléculas TNF-R2, coloridas de azul, juntas se ligam a um homotrímero de TNF, colorido em verde, com cada molécula de receptor interagindo com dois monômeros de TNF diferentes no complexo homotrímero. As regiões de ligação de apenas uma das três moléculas de TNF-R2 a dois monômeros de TNF são destacadas na vista lateral, com círculos cor de laranja. *(Modificado de Mukai Y, Nakamura T, Yoshikawa M, et al: Solution of the structure of the TNF-TNFR2 complex*, Science Signal *3:ra83, 2010.)*

Existem dois receptores de TNF distintos, denominados tipo I (TNF-RI) e tipo II (TNF-RII). As afinidades do TNF por seus receptores são incomumente baixas para uma citocina, com um K_d de apenas $\sim 1 \times 10^{-9}$ M para ligação ao TNF-RI e $\sim 5 \times 10^{-10}$ M para ligação ao TNF-RII. Ambos os receptores de TNF estão presentes na maioria dos tipos celulares. Os receptores de TNF são membros de uma ampla família de proteínas chamada superfamília do receptor de TNF, muitas das quais são proteínas envolvidas em respostas imunes e inflamatórias. Esses receptores existem na forma de trímeros na membrana plasmática. A ligação do ligante a algum dos membros da família do receptor de TNF, como TNF-RI, TNF-RII e CD40, leva ao recrutamento de proteínas chamadas fatores associados ao receptor de TNF (TRAFs, do inglês, *TNF receptor-associated factors*) para os domínios citoplasmáticos dos receptores. Os TRAFs ativam fatores de transcrição, notavelmente NF-κB e AP-1 (Capítulo 7). A ligação da citocina a alguns membros da família, como TNF-RI, pode levar ao recrutamento de uma proteína adaptadora que ativa caspases e deflagra apoptose. Assim, diferentes membros da família do receptor de TNF podem induzir expressão gênica ou morte celular, sendo que alguns podem fazer as duas coisas.

A produção de TNF por macrófagos é estimulada por PAMPs e DAMPs. Os TLRs, NLRs, RLRs e CDSs podem, todos, induzir a expressão gênica do TNF, em parte por meio da ativação do fator de transcrição NF-κB. Muitos produtos microbianos diferentes podem, portanto, induzir a produção de TNF. Grandes quantidades desta citocina podem ser produzidas durante as infecções por bactérias Gram-negativas e Gram-positivas, as quais expressam e liberam ligantes de TLR de parede celulare ácido lipoteicoico, respectivamente. O choque séptico, uma condição que ameaça a vida e resulta de infecções graves, é mediada em grande parte pelo TNF. Discutiremos o choque séptico posteriormente, neste mesmo capítulo. O TNF também é um dos principais contribuidores para a inflamação associada a muitas doenças inflamatórias humanas, sendo que os agentes anti-TNF se tornaram a base do tratamento de muitas dessas condições.

Interleucina-1

A IL-1 também é um mediador da resposta inflamatória aguda e exerce muitas ações similares às do TNF. A principal fonte celular de IL-1, assim como a de TNF, são os fagócitos mononucleares ativados. Diferente do TNF, a IL-1 também é produzida por muitos tipos celulares além dos macrófagos, tais como neutrófilos, células epiteliais (p. ex.: queratinócitos) e células endoteliais. Existem duas formas de IL-1 chamadas IL-1α e IL-1β, que apresentam menos de 30% de homologia entre si, mas se ligam aos mesmos receptores de superfície celular e exibem as mesmas atividades biológicas. A principal forma biologicamente ativa secretada no contexto das infecções e na maioria das outras respostas imunes é a IL-1β.

A produção de IL-1 geralmente requer dois sinais distintos, um que ativa a transcrição de novos genes e a produção de um polipeptídeo precursor pró-IL-1β de 33 kDa, e um segundo que ativa o inflamassomo a clivar proteoliticamente o precursor para gerar a proteína IL-1β madura, de 17 kDa (Fig. 4.6). Como discutido anteriormente neste capítulo, a transcrição gênica de IL-1β é induzida pelas vias de sinalização de TLR e NLR que ativam NF-κB, enquanto a clivagem da pró- -IL-1β é mediada pela caspase-1, que é ativada no inflamassomo. O TNF também pode estimular fagócitos e outros tipos celulares a produzirem IL-1. Isso exemplifica uma cascata de citocinas com atividades biológicas similares. A IL-1 é secretada por uma via não clássica, porque, diferentemente da maioria das proteínas secretadas, tanto IL-1α como IL-1β não têm sequências sinalizadoras hidrofóbicas para direcionar o polipeptídeo nascente para a membrana do retículo endoplasmático. Uma forma pela qual a IL-1β pode ser secretada é através de poros na membrana formados por fragmentos oligomerizados de uma proteína chamada gasdermina D, os quais são proteoliticamente gerados pela caspase-11, já discutida como mediador de piroptose.

A IL-1 medeia seus efeitos biológicos por meio de um receptor de membrana chamado receptor de IL-1 tipo I, expresso em muitos tipos celulares, incluindo as células endoteliais, células epiteliais e leucócitos. Esse receptor é uma proteína integral de membrana que contém um domínio extracelular Ig de ligação ao ligante e um domínio de sinalização TIR na região do citosol, o qual já foi descrito em referência aos TLRs. Os eventos de sinalização que ocorrem quando IL-1 se liga ao receptor de IL-1 tipo I são similares àqueles deflagrados pelos TLRs e resultam na ativação dos fatores de transcrição NF-κB e AP-1 (Capítulo 7). Um segundo receptor de IL-1, chamado receptor de IL-1 tipo II, parece ser incapaz de ativar sinais *downstream* e atua como receptor-isca que limita as respostas à IL-1.

Interleucina-6

A IL-6 é outra importante citocina nas respostas inflamatórias agudas, com efeitos locais e sistêmicos. Induz a síntese de reagentes de fase aguda pelo fígado, estimula a produção de neutrófilos na medula óssea e promove a diferenciação de células T auxiliares produtoras de IL-17. A IL-6 é sintetizada por fagócitos mononucleares, DCs, células endoteliais vasculares, fibroblastos e outras células em resposta aos PAMPs e também à IL-1 e ao TNF. A IL-6 é um homodímero que pertence à família de citocinas do tipo I (Capítulo 7). O receptor de IL-6 consiste em uma cadeia polipeptídica ligante de citocina e uma subunidade transdutora de sinal (chamada gp130) que também constitui o componente de sinalização dos receptores de outras citocinas. O receptor de IL-6 engaja uma via de sinalização que ativa o fator de transcrição STAT3 (Capítulo 7). A IL-6 é um dos principais contribuidores para a inflamação em várias doenças inflamatórias humanas, entre as quais a artrite reumatoide, e anticorpos específicos para o receptor de IL-6 são usados no tratamento de algumas formas de artrite. Alguns distúrbios

linfoproliferativos, como a doença de Castleman, são causados pelo herpesvírus humano-8 (HHV-8), um vírus que codifica um homólogo da IL-6, sendo que o bloqueio de IL-6 tem sido usado no tratamento destas condições.

Outras Citocinas Produzidas durante as Respostas Imunes Inatas

Além do TNF, IL-1 e IL-6, DCs e macrófagos ativados por PAMPs e DAMPs produzem outras citocinas que exercem papéis importantes nas respostas imunes inatas (Tabela 4.5). Nesta seção, discutiremos as principais características de algumas dessas citocinas e seus papéis na imunidade inata, enquanto os interferons e citocinas inibidoras serão discutidos mais adiante, ainda neste capítulo.

A IL-12 é secretada por DCs e macrófagos e estimula a produção de IFN-γ por ILC1s, células NK e células T; intensifica a citotoxicidade mediada pela célula NK e pelo CTL; e promove diferenciação de células Th1. A IL-12 existe na forma de um heterodímero com ligações dissulfeto, contendo uma subunidade de 35 kDa (p35) e outra de 40 kDa (p40). A subunidade p35 é membro da família de citocinas do tipo I e a subunidade p40 também é um componente da citocina IL-23, que está envolvida na diferenciação das células Th17. Portanto, anticorpos específicos para p40 bloqueiam tanto IL-12 como IL-23 e, assim, inibem o desenvolvimento IL-12-dependente de células Th1 e o desenvolvimento IL-23-dependente de células Th17. Esses anticorpos estão aprovados para uso no tratamento de doenças inflamatórias como a enteropatia inflamatória e a psoríase, causadas por citocinas Th1 e/ou Th17.

As principais fontes de IL-12 são as DCs e macrófagos ativados. Muitas células parecem sintetizar a subunidade p35, porém os macrófagos e DCs são os principais tipos celulares produtores do componente p40 e, portanto, da citocina biologicamente ativa. Durante as reações imunes inatas aos microrganismos, a IL-12 é produzida em resposta à sinalização de TLR e de outro receptor de reconhecimento de padrão induzida por muitos estímulos microbianos, incluindo o LPS ou o ácido lipoteicoico bacterianos, e infecções virais. O IFN-γ produzido pelas células NK ou pelas células T também estimula a produção de IL-12, contribuindo para uma alça de *feedback* positivo.

O receptor de IL-12 é um heterodímero composto pelas subunidades β1 e β2, ambas membros da família de receptor de citocina do tipo I. Ambas as cadeias são requeridas para a ligação de alta afinidade à IL-12 e para a sinalização, que ativa o fator de transcrição STAT4. A expressão da própria cadeia β2 do receptor de IL-12 é intensificada pelo IFN-γ, cuja produção é estimulada pela IL-12. Esse é um exemplo de uma alça de amplificação positiva em respostas imunes. Estudos com camundongos *knockout* gênicos e o fenótipo dos raros pacientes com mutações envolvendo o receptor de IL-12 sustentam a conclusão de que a IL-12 é importante para a produção de IFN-γ por células NK e células T, bem como para a resistência do hospedeiro a bactérias intracelulares e alguns vírus. Por exemplo, foram descritos pacientes com mutações na subunidade β1 do receptor de IL-12, os quais são altamente suscetíveis a infecções por bactérias intracelulares, notavelmente *Salmonella* e micobactérias atípicas. A IL-12 secretada por DCs durante a apresentação de antígeno a células T $CD4^+$ *naive* promove diferenciação dessas células na subpopulação Th1 de células T auxiliares, as quais são importantes para a defesa contra infecções intracelulares (Capítulo 10). Trata-se de um modo-chave de a imunidade inata moldar as respostas imunes adaptativas.

A **IL-18** intensifica as funções das células NK, de modo similar à IL-12. Lembre que a produção de IL-18, assim como a de IL-1, depende do inflamassomo. Também do mesmo modo que a IL-1, a IL-18 se liga a um receptor que sinaliza através de um domínio TIR.

A **IL-15** estimula o crescimento e as funções das ILC1s, células NK e células T. A IL-15 é estruturalmente homóloga ao fator de crescimento da célula T, a IL-2, e o receptor heterotrimérico da IL-15 compartilha duas subunidades com o receptor de IL-2. Uma característica interessante da IL-15 é poder ser expressa na superfície celular ligada à cadeia α de seu receptor e, nessa forma, poder ser apresentada e estimular as células adjacentes que expressem um receptor composto pelas outras duas cadeias (β e γ). A IL-15 apresentada desta forma pelas DCs às células NK nos linfonodos ativa as vias de sinalização que promovem a produção de IFN-γ pelas células NK. A IL-15 também serve de fator de sobrevivência para células NK e células T $CD8^+$ de memória.

A IL-25, a linfopoietina estromal tímica (TSLP, do inglês, *thymic stromal lymphopoietin*) e a IL-33 são citocinas estruturalmente não relacionadas produzidas por células das barreiras epiteliais, bem como por outros tipos celulares, que estimulam ILC2s, células Th2 e mastócitos a produzirem IL-4, IL-5 e IL-13. Essas últimas citocinas são importantes para a defesa contra helmintos, mas também contribuem para a doença alérgica (Capítulo 20). A IL-33 é expressa de modo constitutivo pelas células de barreiras

epiteliais, e armazenada em seus núcleos. Frequentemente, é chamada de alarmina por ser rapidamente liberada de células epiteliais lesadas e, então, estimular as respostas imunes inata e adaptativa.

Além das citocinas aqui discutidas, outras citocinas exercem papéis importantes nas respostas imunes inata e adaptativa, entre as quais IL-5, IL-17 e IFN-γ. Essas citocinas serão discutidas em detalhes no Capítulo 10, ao considerarmos as subpopulações de células T auxiliares que as produzem.

Recrutamento de Leucócitos para Sítios de Infecção

O recrutamento de grandes quantidades de neutrófilos, seguidos de monócitos, do sangue para os tecidos tipicamente ocorre como parte da resposta inflamatória aguda a infecções e lesão tecidual. As citocinas TNF, IL-1 e IL-6, bem como as quimiocinas, todas secretadas nos sítios de infecção ou lesão tecidual, possuem múltiplos efeitos sobre as células endoteliais vasculares, leucócitos e medula óssea, os quais atuando conjuntamente aumentam a distribuição local das células capacitadas a lutar contra as infecções e a reparar os tecidos (Figs. 4.15 e 3.3). O recrutamento de leucócitos foi descrito no Capítulo 3 e será considerado apenas brevemente aqui.

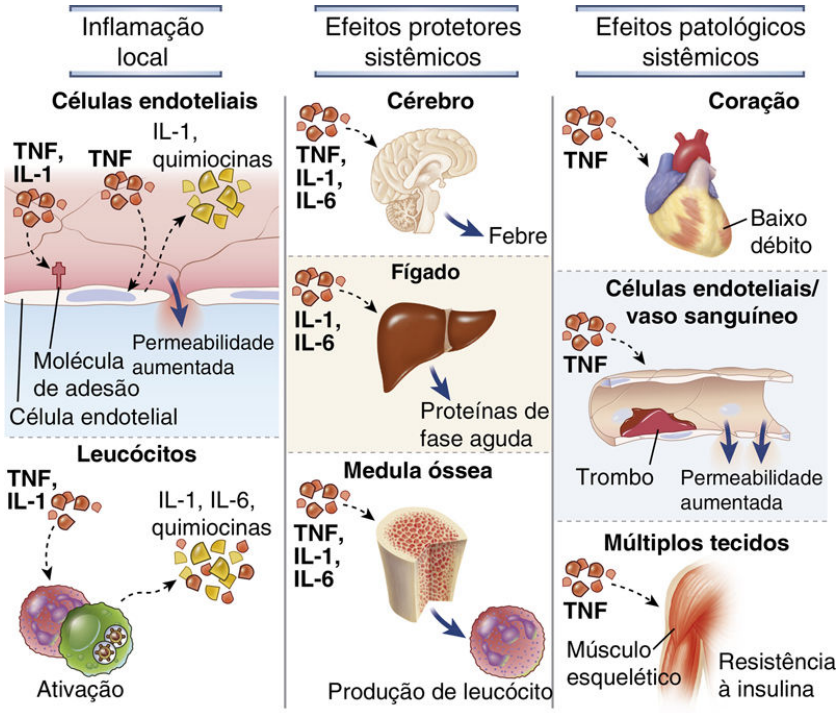


FIGURA 4.15 Ações locais e sistêmicas das citocinas na inflamação.
TNF, IL-1 e IL-6 produzem múltiplos efeitos locais e sistêmicos. TNF e IL-1 atuam nos leucócitos e no endotélio induzindo inflamação aguda, e ambas induzem expressão de IL-6 em leucócitos e outros tipos celulares. TNF, IL-1 e IL-6 medeiam os efeitos sistêmicos protetores da inflamação, incluindo a indução de febre, síntese de proteínas de fase aguda pelo fígado, e produção aumentada de leucócitos pela medula óssea. O TNF sistêmico pode causar anormalidades patológicas que levam ao choque séptico, incluindo a função cardíaca diminuída, trombose, vazamento capilar e anormalidades metabólicas decorrentes de resistência à insulina.

TNF e IL-1 induzem as células endoteliais das vênulas pós-capilares a expressarem E-selectina e a aumentarem sua expressão de ligantes para integrinas leucocitárias. Essas alterações na expressão de moléculas de adesão endotelial resultam da ativação de fatores de transcrição, incluindo o NF-κB, pelo TNF e pela IL-1.

TNF e IL-1 também estimulam várias células a secretarem quimiocinas, como CXCL8 e CCL2, que se ligam a receptores existentes em neutrófilos e monócitos, respectivamente. Como discutido no Capítulo 3, essas quimiocinas aumentam a afinidade das integrinas leucocitárias por seus ligantes e estimulam o movimento direcionado dos leucócitos. O resultado da expressão aumentada de selectina,

integrina e quimiocina é um aumento na adesão de neutrófilos e monócitos às células endoteliais, e transmigração através da parede vascular. Os leucócitos se acumulam nos tecidos, formando um infiltrado inflamatório. As ações do TNF sobre o endotélio e os leucócitos são decisivas para as respostas inflamatórias locais aos microrganismos. Se quantidades inadequadas de TNF estiverem presentes (p. ex.: em pacientes tratados com fármacos que bloqueiam o TNF ou em camundongos *knockout* para o gene do TNF), uma possível consequência é a falha em conter a infecção.

Em adição, TNF, IL-1 e IL-6 produzidas em sítios inflamatórios podem entrar no sangue e ser distribuídas para a medula óssea, onde intensificam a produção de neutrófilos a partir dos progenitores existentes no local, em geral atuando em conjunto com fatores estimuladores de colônia. Nesse sentido, essas citocinas intensificam o suprimento de células que podem ser recrutadas para os sítios de infecção e repõem os leucócitos consumidos durante as reações inflamatórias.

Ingesta e *Killing* de Microrganismos por Fagócitos Ativados

Os neutrófilos e macrófagos recrutados para os sítios de infecção ingerem microrganismos que são contidos em vesículas, pelo processo de fagocitose, e os destroem (Fig. 4.16). A fagocitose é um processo dependente de energia e ativo de englobamento de partículas grandes (>0,5 μm de diâmetro) no interior de vesículas. As vesículas fagocíticas se fundem aos lisossomos, onde então as partículas ingeridas são destruídas. Desse modo, os mecanismos de *killing*, que potencialmente poderiam lesar o fagócito, são isolados do restante da célula.

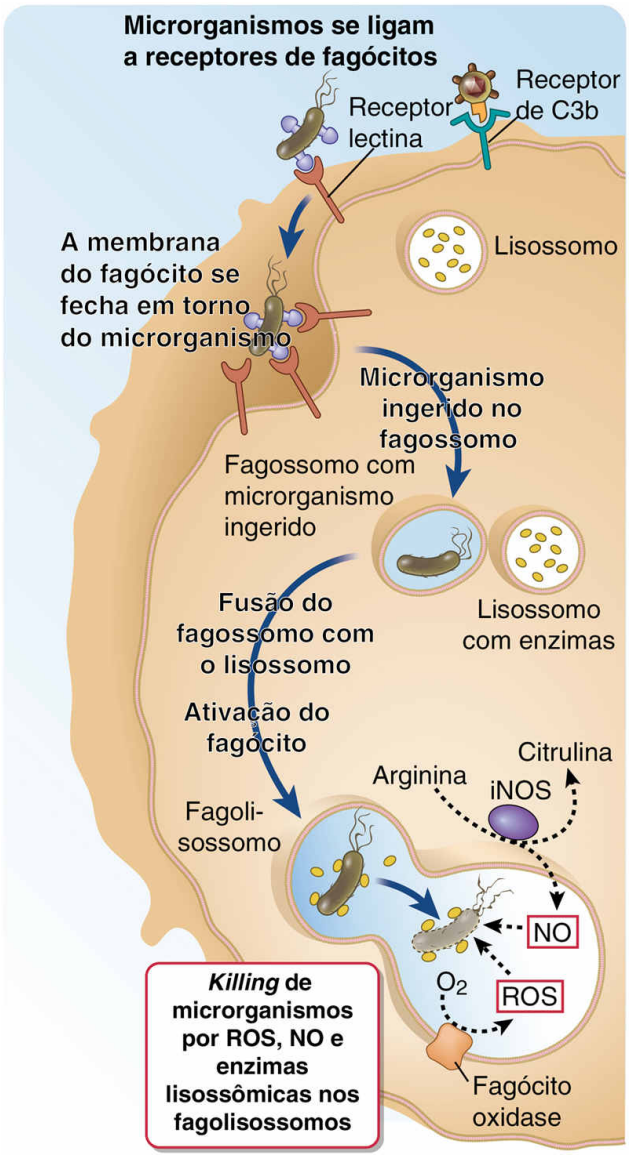


FIGURA 4.16 Fagocitose e destruição intracelular de microrganismos.
Os microrganismos podem ser inferidos através de diferentes receptores de membrana existentes nos fagócitos. Alguns se ligam diretamente aos microrganismos, enquanto outros se ligam a microrganismos opsonizados. (Note que a integrina Mac-1 se liga a microrganismos opsonizados com proteínas do complemento — não mostrado.) Os microrganismos são internalizados para dentro dos fagossomos, os quais se fundem aos lisossomos para formar fagolisossomos, onde os microrganismos são mortos por espécies reativas de oxigênio e nitrogênio, e enzimas proteolíticas. *iNOS*, óxido nítrico sintase induzível; *NO*, óxido nítrico; *ROS*, espécies reativas de oxigênio.

Os neutrófilos e macrófagos expressam receptores que reconhecem especificamente os microrganismos, e a ligação dos microrganismos a esses receptores é a primeira etapa na fagocitose. Alguns desses receptores são de reconhecimento de padrão, incluindo lectinas do tipo C e receptores *scavenger*, já discutidos. Os receptores de reconhecimento de padrão podem contribuir para a fagocitose somente de organismos que expressam padrões moleculares particulares, como a manose para o receptor de manose. Os fagócitos também têm receptores de alta afinidade para certas opsoninas, incluindo moléculas de anticorpo, proteínas do complemento e lectinas plasmáticas. Esses receptores são decisivos para a fagocitose de muitos microrganismos diferentes que estejam recobertos pelas opsoninas. Recobrir os microrganismos com anticorpos é um dos sistemas mais eficientes de opsonização. Os fagócitos expressam um receptor Fc de alta afinidade chamado FcγRI, específico para

um tipo de anticorpo chamado IgG (Capítulos 5 e 13). Desse modo, se um indivíduo responde a uma infecção produzindo anticorpos IgG contra antígenos microbianos, as moléculas de IgG se ligam a esses antígenos, as extremidades Fc dos anticorpos ligados podem interagir com o FcγRI nos fagócitos, e o resultado final é a fagocitose eficiente dos microrganismos. A fagocitose anticorpo-dependente ilustra uma ligação existente entre a imunidade inata e a adaptativa — anticorpos são um produto do sistema imune adaptativo (linfócitos B) que engajam células efetoras do sistema imune inato (fagócitos) para realizar suas funções protetoras.

Quando um microrganismo ou uma partícula se liga aos receptores existentes em um fagócito, a membrana plasmática na região dos receptores começa a se invaginar e se estende formando uma projeção "em forma de copo" ao redor do microrganismo. Quando a projeção da membrana em forma de "copo" se estende além do diâmetro da partícula, o topo do "copo" se fecha por cima e prende sua parte interna, formando uma vesícula intracelular de dentro para fora (Fig. 4.16). Essa vesícula, chamada fagossomo, contém a partícula estranha ingerida e se separa da membrana plasmática. Os receptores da superfície celular também fornecem sinais de ativação que estimulam as atividades microbicidas dos fagócitos. Os microrganismos fagocitados são destruídos, conforme descrito a seguir. Ao mesmo tempo, peptídeos são gerados a partir das proteínas microbianas e apresentados aos linfócitos T para iniciar respostas imunes adaptativas (Capítulo 6).

Neutrófilos e macrófagos ativados matam microrganismos fagocitados por meio da ação microbicida de moléculas junto aos fagolisossomos (Fig. 4.16). Sinais de vários receptores, incluindo receptores de reconhecimento de padrão (como os TLRs), receptores de opsonina (como os receptores de Fc e C3), receptores de citocina (principalmente de IFN-γ) e CD40, atuam em cooperação para ativar fagócitos a matarem os microrganismos ingeridos. A fusão de vacúolos fagocíticos (fagossomos) com lisossomos resulta na formação de fagolisossomos, onde a maioria dos mecanismos microbicidas estão concentrados. Há três classes de moléculas microbicidas que são comprovadamente as mais importantes.

- ***Espécies reativas de oxigênio***. Neutrófilos ativados e, em menor extensão, macrófagos, convertem o oxigênio molecular em ROS, que são agentes oxidantes altamente reativos contendo radicais livres que destroem microrganismos (e outras células). O sistema gerador de radicais livres primário é o sistema da oxidase do fagócito, uma enzima com múltiplas subunidades montada em fagócitos ativados, principalmente na membrana dos fagolisossomos. A oxidase do fagócito é ativada por numerosos estímulos, incluindo IFN-γ e sinais de TLRs. A função dessa enzima é reduzir o oxigênio molecular em ROS como os radicais superóxido, com a forma reduzida da nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato (NADPH) atuando como cofator. O superóxido é enzimaticamente dismutado em peróxido de hidrogênio que é usado pela enzima mieloperoxidase para converter íons haletos não reativos em ácidos hipoalosos que são tóxicos para as bactérias. O processo de produção de ROS é chamado ***burst* respiratório** (explosão respiratória), porque requer consumo de oxigênio (respiração celular). Uma doença chamada **doença granulomatosa crônica** é causada por uma deficiência hereditária de um dos componentes da oxidase do fagócito; essa deficiência compromete a capacidade dos fagócitos de matar certas espécies de bactérias (Capítulo 21).
- ***Óxido nítrico.*** Os macrófagos produzem espécies reativas de nitrogênio, principalmente óxido nítrico (NO), por meio da ação de uma enzima chamada óxido nítrico sintase induzível (iNOS). A iNOS é uma enzima citosólica ausente em macrófagos em repouso, mas que pode ser induzida em resposta a produtos microbianos que ativam TLRs, especialmente em combinação com IFN-γ. A iNOS catalisa a conversão de arginina em citrulina e o gás óxido nítrico difusível é liberado. Dentro dos fagolisossomos, o óxido nítrico pode se combinar ao peróxido de hidrogênio ou ao superóxido, gerados pela oxidase do fagócito, e produzir radicais peroxinitrito altamente reativos que podem matar microrganismos. A função cooperativa e redundante de ROS e do óxido nítrico é demonstrada pelo achado de que camundongos *knockout* desprovidos de iNOS e da oxidase do fagócito são mais suscetíveis a infecções bacterianas do que animais *knockout* apenas para fagócito oxidase ou para iNOS.
- ***Enzimas proteolíticas.*** Neutrófilos e macrófagos ativados produzem várias enzimas proteolíticas nos fagolisossomos, as quais atuam destruindo os microrganismos. Uma das enzimas mais importantes em neutrófilos é a elastase, uma serina protease de amplo espectro comprovadamente requerida para o *killing* de muitos tipos de bactérias. Outra enzima

importante é a catepsina G. Estudos com camundongos *knockout* gênicos confirmaram o requerimento essencial destas enzimas no *killing* de bactérias por fagócitos.

Os neutrófilos também matam microrganismos por extrusão do DNA e dos conteúdos de seus grânulos, os quais formam filamentos extracelulares onde bactérias e fungos são presos e destruídos. A extrusão do conteúdo da cromatina, chamada **armadilhas extracelulares do neutrófilo** (NETs, do inglês, *neutrophil extracellular traps*), são compostos por fitas de DNA e histonas as quais se ligam altas concentrações de conteúdos granulares antimicrobianos, incluindo lisozima, elastase e defensinas. A formação da NET requer a citrulinização de histonas por uma enzima chamada peptidilarginina deiminase (PAD4), além da oxidase do fagócito, mieloperoxidase e serina protease elastase do neutrófilo. A extrusão de conteúdos nucleares durante a formação da NET leva à morte celular do neutrófilo, referida como NETose. A importância das NETs na proteção inata contra infecções permanece obscura, mas evidências crescentes indicam que a formação excessiva de NET contribui para o desenvolvimento de doenças autoimunes e outras condições inflamatórias.

Outras Funções dos Macrófagos Ativados

Além de destruírem os microrganismos fagocitados, os macrófagos exercem muitas outras funções na defesa contra infecções (Fig. 4.17). Várias dessas funções são mediadas pelas citocinas produzidas pelos macrófagos. Já descrevemos como o TNF, a IL-1 e as quimiocinas produzidas pelos fagócitos intensificam as reações inflamatórias aos microrganismos e trazem mais leucócitos e proteínas plasmáticas. Alguns macrófagos ativados também produzem fatores de crescimento para fibroblastos e células endoteliais que participam no reparo dos tecidos após as infecções e lesões. O papel dos macrófagos na imunidade mediada por células é descrito no Capítulo 10.

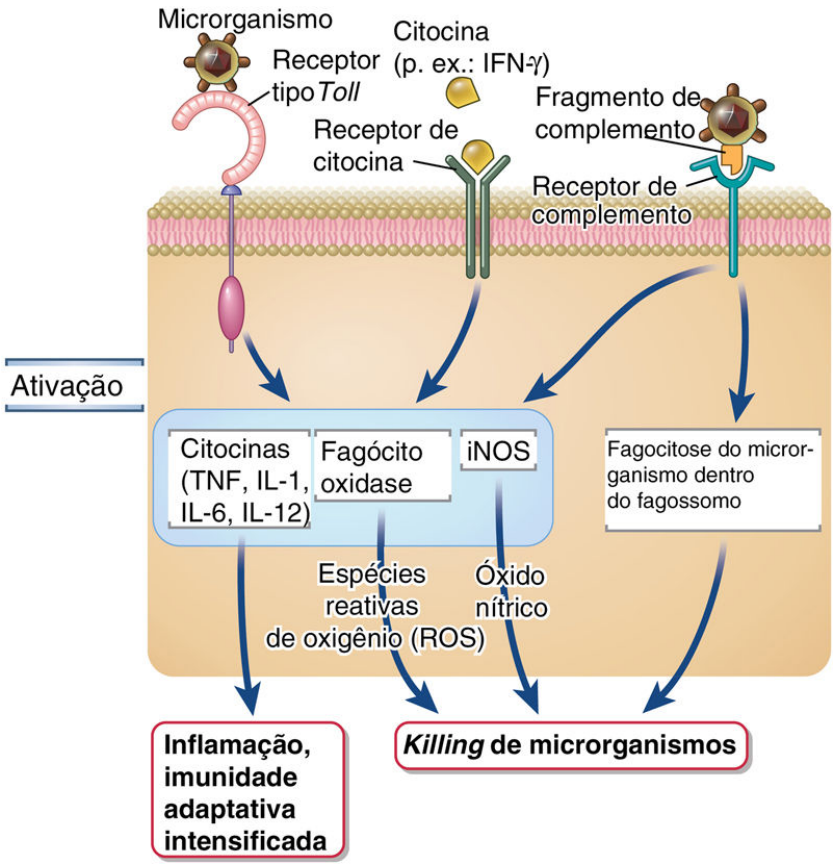


FIGURA 4.17 Funções dos macrófagos.
Os macrófagos são ativados por produtos microbianos como LPS e IFN-γ derivados da célula NK. O processo de ativação do macrófago leva à ativação de fatores de transcrição, transcrição de vários genes, e síntese de proteínas que medeiam as funções destas células. Na imunidade adaptativa mediada por células, os macrófagos são ativados por estímulos oriundos dos linfócitos T (CD40-ligante e IFN-γ) e respondem essencialmente da mesma forma (Fig. 10.7). Os macrófagos também podem ser ativados por outros sinais para então promoverem reparo tecidual e fibrose (não mostrado).

Os macrófagos podem ser ativados de diferentes modos, favorecendo as funções microbicida e pró-inflamatória ou, em contraste, as funções reparadora e anti-inflamatória. Esses diferentes tipos de ativação do macrófago, chamados clássico e alternativo, respectivamente, são discutidos com mais detalhes no Capítulo 10.

Consequências Sistêmicas e Patológicas da Inflamação

TNF, IL-1 e IL-6 produzidos durante a resposta imune inata a infecções ou dano tecidual exercem efeitos sistêmicos que contribuem para a defesa do hospedeiro e são responsáveis por muitas das manifestações clínicas de infecção e doença inflamatória (Fig. 4.15).

- ***TNF e IL-1 atuam no hipotálamo para induzir elevação da temperatura corporal (febre).*** Essas citocinas, portanto, são chamadas pirógenos endógenos (i. e., agentes causadores de febre derivados do hospedeiro, para distingui-los do LPS, que era considerado um pirógeno exógeno [derivado de microrganismo]). Essa distinção tem significado principalmente histórico, porque agora sabemos que até o LPS induz febre por meio da estimulação da produção das citocinas TNF e IL-1 que, por sua vez, aumentam a síntese de prostaglandinas nas células hipotalâmicas. Os inibidores da síntese de prostaglandina, como a aspirina, reduzem a febre bloqueando essa ação das citocinas. O papel da febre na defesa do hospedeiro é pouco entendido, mas pode estar relacionado com funções metabólicas intensificadas nas células imunes, funções metabólicas

comprometidas em microrganismos, e alterações no comportamento do hospedeiro febril que diminuem o risco de piora das infecções e da lesão.
- IL-1 e IL-6 induzem os hepatócitos a produzirem reagentes de fase aguda, incluindo CRP, SAP e fibrinogênio, os quais são secretados no sangue. Níveis plasmáticos elevados dessas proteínas são comumente usados na clínica como sinais de infecção ou outros processos inflamatórios. As pentraxinas CRP e SAP exercem papéis protetores nas infecções, conforme já discutimos neste mesmo capítulo, e o fibrinogênio, precursor da fibrina, contribui para a homeostasia e reparo tecidual.

Nas infecções graves, o TNF pode ser produzido em grandes quantidades e causar anormalidades patológicas e clínicas sistêmicas. Se o estímulo para a produção de citocina for suficientemente forte, a quantidade de TNF pode ser tão grande que o TNF entra na corrente sanguínea e atua em sítios distantes (Fig. 4.15). As principais ações sistêmicas do TNF são as seguintes:

- O TNF inibe a contratilidade miocárdica e o tônus da musculatura lisa vascular, resultando em acentuada diminuição da pressão arterial ou em choque.
- O TNF causa trombose intravascular, principalmente como resultado do comprometimento das propriedades anticoagulantes normais do endotélio. Nas células endoteliais, o TNF estimula a expressão do fator tecidual, um potente ativador da coagulação, e inibe a expressão de trombomodulina, um inibidor da coagulação. As alterações endoteliais são exacerbadas pela ativação dos neutrófilos, levando à formação de tampão vascular por essas células.
- A produção prolongada de TNF causa o desgaste das células musculares e adiposas, chamado caquexia. Esse desgaste resulta da supressão do apetite induzida pelo TNF e da síntese diminuída da lipoproteína lipase, uma enzima necessária para liberar ácidos graxos das lipoproteínas circulantes de modo que estas possam ser usadas pelos tecidos.

Uma complicação sistêmica da infecção grave, geralmente bacteriana, é uma síndrome chamada **sepse**, clinicamente caracterizada por febre, aceleração das frequências cardíaca e respiratória, anormalidades metabólicas e perturbações mentais. A infecção pode envolver a presença de microrganismos no sangue, embora isso não seja documentado na maioria dos casos. A sepse bacteriana é mais frequentemente iniciada pelo LPS (também chamado endotoxina) liberado de bactérias Gram-negativas ou pelo ácido lipoteicoico liberado por bactérias Gram-positivas, os quais podem cair na corrente sanguínea. A sinalização do TLR então é induzida nas células em muitos órgãos, pelo LPS ou pelo ácido lipoteicoico, levando à produção de TNF e outras citocinas, entre as quais IL-12, IFN-γ e IL-1. Na forma mais grave de sepse, chamada **choque séptico**, há colapso vascular decorrente dos efeitos das altas doses de TNF anteriormente discutidos. A concentração sérica de TNF pode ser preditiva do desfecho da sepse grave. O choque séptico pode ser reproduzido experimentalmente em animais, por meio da administração de LPS, ácido lipoteicoico ou TNF. Os antagonistas de TNF podem prevenir a mortalidade em modelos experimentais, mas as triagens clínicas com anticorpos anti-TNF ou receptores solúveis de TNF não demonstraram benefício em pacientes com sepse. A causa dessa falha terapêutica é desconhecida, mas é possível que outras citocinas elicitem as mesmas respostas induzidas pelo TNF.

Uma síndrome similar ao choque séptico pode ocorrer como complicação de distúrbios não infecciosos, como queimaduras graves, traumatismos, pancreatite e outras condições sérias. Essa síndrome é chamada síndrome da resposta inflamatória sistêmica (SIRS, do inglês, *systemic inflammatory response syndrome*).

A inflamação aguda pode causar lesão tecidual, porque os mecanismos efetores usados pelos fagócitos para matar os microrganismos também são tóxicos para os tecidos do hospedeiro. As enzimas proteolíticas e as espécies reativas do oxigênio produzidas pelos fagócitos que se acumulam no sítio de infecção podem lesar as células do hospedeiro e degradar a matriz extracelular se forem geradas em grandes quantidades, especialmente quando os microrganismos resistem ao *killing* e continuam estimulando as respostas imunes inatas. De fato, ao menos parte da patologia associada às infecções é devido às respostas inflamatórias e não aos efeitos tóxicos diretos dos microrganismos. A inflamação aguda também causa dano tecidual no contexto das doenças autoimunes, em que os neutrófilos e macrófagos se acumulam e são ativados como resultado da estimulação do sistema imune adaptativo por antígenos próprios (Capítulo 15). Como na inflamação induzida por infecções, TNF, IL-1, IL-6 e IL-

12 são os principais indutores de inflamação nas doenças autoimunes. Antagonistas contra todas essas citocinas ou seus receptores estão em uso clínico para diminuir a inflamação em pacientes com doenças inflamatórias, como artrite reumatoide, enteropatia inflamatória e psoríase.

A Resposta Antiviral

A principal forma pela qual o sistema imune inato bloqueia as infecções virais é a indução da expressão de interferons do tipo I, cuja ação mais importante é inibir a replicação viral. No início do capítulo, discutimos como vários receptores de reconhecimento de padrão, incluindo alguns TLRs, NLRs, RLRs e CDSs, geram sinais que estimulam a expressão dos genes de IFN-α e IFN-β em muitos tipos celulares diferentes. Esses interferons do tipo I secretados pelas células atuam em outras células prevenindo a disseminação da infecção viral. Nesta seção, descreveremos as principais propriedades dos interferons do tipo I e as ações antivirais destas citocinas.

Os interferons do tipo I constituem uma ampla família de citocinas estruturalmente relacionadas que medeiam a resposta imune inata inicial às infecções virais. O termo "interferon" deriva da habilidade destas citocinas de interferir na infecção viral. Existem numerosos tipos de interferons do tipo I, os quais são estruturalmente homólogos e codificados por genes em um único grupamento localizado no cromossomo 9. Dentre os interferons do tipo I, os mais importantes na defesa antiviral são o IFN-α (que, na verdade, engloba 13 proteínas diferentes estreitamente relacionadas) e o IFN-β, que é uma proteína única. As DCs plasmacitoides são as principais fontes de IFN-α que, todavia, também pode ser produzido por fagócitos mononucleares. O IFN-β é produzido por muitos tipos celulares em resposta à infecção viral. Os estímulos mais potentes para a síntese de interferon do tipo I são os ácidos nucleicos virais. Lembre que os receptores do tipo RIG e os sensores de DNA presentes no citosol, bem como os TLRs 3, 7, 8 e 9 presentes nas vesículas endossômicas, reconhecem ácidos nucleicos virais e iniciam as vias de sinalização que ativam a família IRF de fatores de transcrição, os quais induzem expressão do gene de interferon do tipo I (Fig. 4.3).

O receptor para interferons do tipo I, que se liga ao IFN-α e ao IFN-β, é um heterodímero composto por dois polipeptídeos estruturalmente relacionados, IFNAR1 e IFNAR2, expressos em todas as células nucleadas. Esse receptor sinaliza para ativar os fatores de transcrição STAT1, STAT2 e IRF9, que induzem expressão de vários genes diferentes cujos produtos proteicos contribuem para a defesa antiviral de vários modos:

- ***Os interferons do tipo I, sinalizando via receptor de interferon do tipo I, ativam a transcrição de vários genes que conferem às células uma resistência à infecção viral denominada estado antiviral*** (Fig. 4.18). Os genes induzidos pelo interferon do tipo I incluem os da serina/treonina proteína quinase ativada por RNA de dupla fita (PKR), que bloqueia eventos de transcrição e tradução viral; e os da 2′,5′-oligoadenilato sintase e RNase L, que promovem degradação do RNA viral. A ação antiviral do interferon do tipo I é primariamente uma ação parácrina, no sentido de que uma célula viralmente infectada secreta interferon para atuar e proteger as células vizinhas ainda não infectadas. Os efeitos dos interferons do tipo I não são específicos para a expressão gênica viral, e parte da habilidade dessas citocinas de bloquear a disseminação da infecção é devido à sua toxicidade às células do hospedeiro que estão nas proximidades das células infectadas. O interferon secretado por uma célula infectada também pode agir de maneira autócrina, inibindo a replicação viral na própria célula que o secreta.
- Os interferons do tipo I causam o sequestro de linfócitos nos linfonodos, maximizando assim a oportunidade de encontrar com os antígenos microbianos. O mecanismo para esse efeito dos interferons do tipo I é a indução de uma molécula nos linfócitos chamada CD69, que forma um complexo e diminui a expressão do receptor de esfingosina 1-fosfato (S1P), o S1PR1 (do inglês, sphingosine1-phosphate receptor 1). Lembre-se do exposto no Capítulo 3: a saída do linfócito dos tecidos linfoides depende da ligação de S1P ao S1PR1. Portanto, o S1PR1 reduzido inibe esta saída e mantém os linfócitos nos órgãos linfoides.
- Os interferons do tipo I aumentam a citotoxicidade das células NK e CTLs $CD8^+$, além de promoverem a diferenciação de células T naive na subpopulação Th1 de células T auxiliares. Esse efeitos dos interferons do tipo I intensificam as imunidades inata e adaptativa contra infecções intracelulares, incluindo vírus e algumas bactérias.
- Os interferons do tipo I regulam positivamente a expressão de moléculas de MHC de classe I e, desse modo, aumentam a probabilidade de as células viralmente infectadas virem a ser reconhecidas e mortas pelos CTLs $CD8^+$. Os CTLs $CD8^+$ vírus-específicos reconhecem peptídeos

derivados de proteínas virais ligados a moléculas do MHC de classe I na superfície de células infectadas. (Discutiremos os detalhes do reconhecimento do peptídeo-MHC pela célula T e do killing de células pelo CTL nos Capítulos 6 e 11.) Portanto, aumentando a quantidade de MHC de classe I sintetizado por uma célula viralmente infectada, os interferons do tipo I aumentarão o número de complexos peptídeo viral-MHC de classe I expostos na superfície celular que os CTLs poderão detectar e responder. O resultado final é o killing aumentado de células infectadas por vírus e a erradicação das infecções virais.

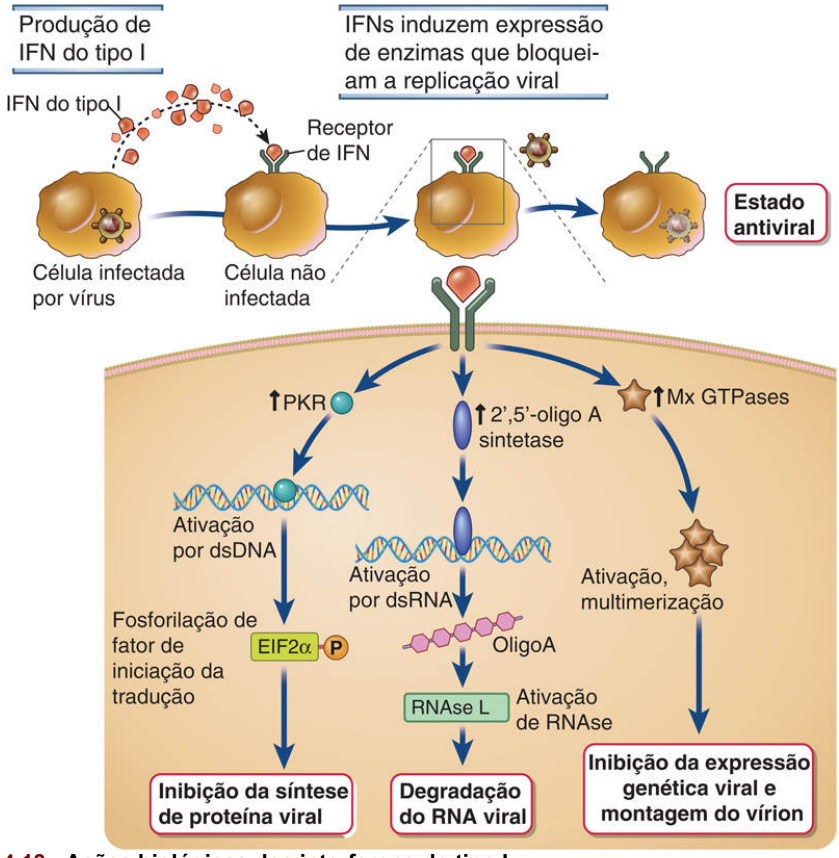


FIGURA 4.18 Ações biológicas dos interferons do tipo I.
Os interferons do tipo I (IFN-α e IFN-β) são produzidos por células infectadas por vírus em resposta à sinalização de TLR intracelular e outros sensores de RNA viral. Os interferons do tipo I se ligam a receptores presentes nas células vizinhas não infectadas e ativam as vias de sinalização JAK-STAT, que induzem expressão de genes cujos produtos interferem na replicação viral. Os interferons do tipo I também se ligam a receptores existentes nas células infectadas e induzem expressão de genes cujos produtos intensificam a suscetibilidade da célula ao *killing* mediado por CTLs. *PKR*, proteína quinase ativada por RNA de fita dupla.

Assim, as principais atividades do interferon do tipo I atuam em conjunto para combater as infecções virais. Camundongos *knockout* que não expressam receptor para interferons do tipo I são suscetíveis a infecções virais. O IFN-α está em uso na clínica como agente antiviral para certas formas de hepatite viral. O IFN-α também é usado no tratamento de alguns tumores, talvez por reforçar a atividade do CTL ou inibir a proliferação celular. O IFN-β é usado como terapia para esclerose múltipla, porém o mecanismo de seu efeito benéfico nessa doença é desconhecido.

A proteção contra vírus é devido, em parte, à ativação de vias de morte apoptótica intrínsecas nas células infectadas e à sensibilidade aumentada aos indutores extrínsecos de apoptose. As proteínas virais sintetizadas nas células infectadas podem ser dobradas de forma incorreta, e seu acúmulo deflagra uma resposta a proteínas não dobradas que pode culminar na apoptose das células infectadas, caso o acúmulo de proteína incorretamente dobrada não possa ser corrigido. Além disso, células

viralmente infectadas são hipersensíveis à apoptose induzida por TNF. O TNF é produzido em abundância pelas DCs plasmacitoides e macrófagos em reposta às infecções virais, em adição aos interferons do tipo I. O receptor de TNF do tipo I engaja vias pró-inflamatórias e também vias pró-apoptóticas de morte. A via dominante ativada pela ligação do TNF depende do estado de síntese proteica nas células que respondem, sendo que a infecção viral pode desviar este equilíbrio na direção da apoptose.

Estimulação da Imunidade Adaptativa

A resposta imune inata fornece sinais que atuam em conjunto com o antígeno para estimular a proliferação e diferenciação de linfócitos T e B antígeno-específicos. À medida que a resposta imune inata confere a defesa inicial contra microrganismos, também aciona a resposta imune adaptativa. A ativação de linfócitos requer dois sinais distintos, o primeiro dos quais é o antígeno e o segundo, as moléculas produzidas durante as respostas imunes inatas aos microrganismos ou células lesadas (Fig. 4.19). Essa ideia é chamada **hipótese dos dois sinais** da ativação do linfócito. O requerimento por um antígeno (também chamado sinal 1) garante que a resposta imune que se segue seja específica. O requerimento por estímulos adicionais deflagrados por reações imunes inatas aos microrganismos (sinal 2) garante que as respostas imunes adaptativas sejam induzidas quando houver uma infecção perigosa e não quando os linfócitos reconhecerem antígenos inócuos, dentre os quais os autoantígenos. As moléculas produzidas durante as reações imunes inatas que atuam como segundos sinais para a ativação do linfócito incluem os coestimuladores (para células T), citocinas (para células T e B) e produtos da quebra do complemento (para células B). Retomaremos a natureza dos segundos sinais para ativação de linfócito nos Capítulos 9 e 12.

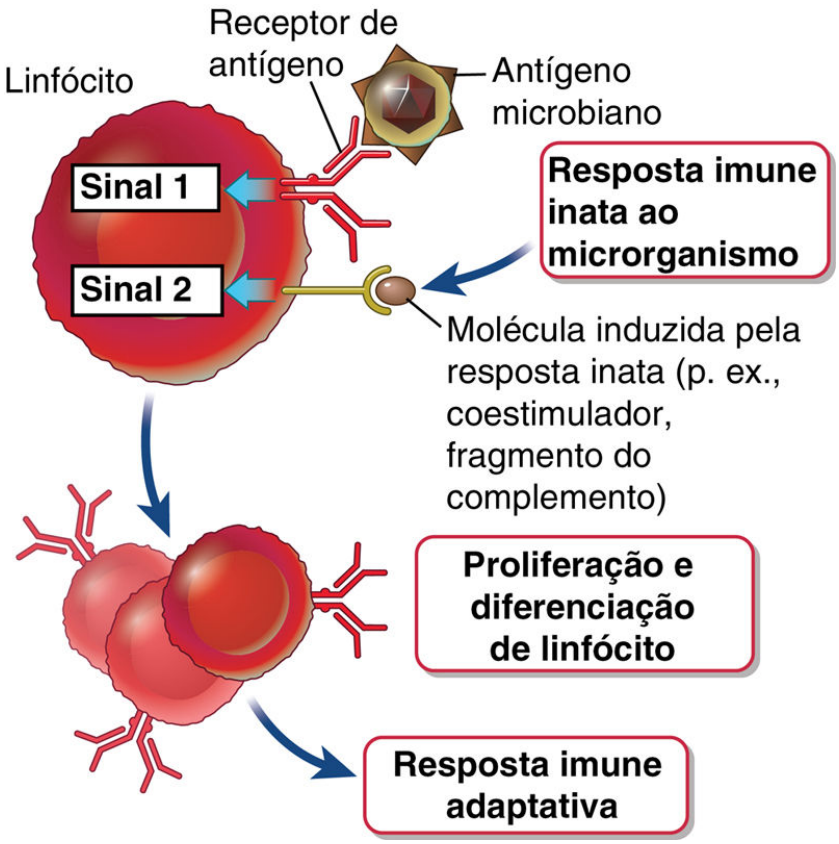


FIGURA 4.19 Estimulação da imunidade adaptativa por respostas imunes inatas.
O reconhecimento do antígeno pelos linfócitos fornece o sinal 1 para sua ativação, e as moléculas induzidas nas células hospedeiras durante as respostas imunes inatas aos microrganismos fornecem o sinal 2. Nessa ilustração, os linfócitos são células B, porém os mesmos princípios se aplicam aos linfócitos T. A natureza dos segundos sinais difere para as células B e T, e é descrita em capítulos posteriores.

Os segundos sinais gerados durante as respostas imunes inatas a diferentes microrganismos não só ampliam a magnitude da resposta imune adaptativa subsequente como também influenciam a natureza

da resposta adaptativa. Uma das principais funções da imunidade mediada por células T é ativar macrófagos para matar microrganismos intracelulares e induzir respostas inflamatórias robustas para recrutar um "exército" suficientemente amplo de macrófagos para o sítio de infecção. Quando DCs ou fagócitos encontram microrganismos, os TLRs e outros receptores de reconhecimento de padrão estimulam a secreção de citocinas e as respostas imunes mediadas pelas células T, que então ativam e recrutam fagócitos para destruir os microrganismos. Esses processos são mediados por citocinas. Dessa forma, a resposta imune inata aos microrganismos contidos nos macrófagos estimula a resposta adaptativa de célula T efetiva contra esses microrganismos.

Em contraste, muitos microrganismos extracelulares que entram no sangue ativam a via alternativa do complemento, e alguns produtos proteolíticos da ativação do complemento intensificam a produção de anticorpos pelos linfócitos B (Capítulo 12). Esses anticorpos opsonizam os microrganismos e, assim, promovem sua fagocitose por neutrófilos e macrófagos, ou matam os microrganismos usando mecanismos dependentes do complemento. Sendo assim, os microrganismos transportados pelo sangue induzem uma resposta imune inata (ativação do complemento) que deflagra a resposta adaptativa designada para eliminar estes patógenos extracelulares.

As citocinas produzidas pelas células durante as respostas imunes inatas aos microrganismos estimulam a proliferação e diferenciação de linfócitos nas respostas imunes adaptativas. A seguir, são fornecidos exemplos de citocinas secretadas por células estimuladas por PAMPs e que atuam em células B, células T $CD4^+$ e células T $CD8^+$. Mencionamos essas citocinas anteriormente e, em capítulos posteriores, discutiremos os detalhes de seus papéeis nas respostas dos linfócitos.

- IL-12 estimula a diferenciação de células T $CD4^+$ *naive* na subpopulação Th1 de células efetoras (Capítulo 10).
- IL-1, IL-6 e IL-23 estimulam a diferenciação de células T $CD4^+$ *naive* na subpopulação Th17 de células efetoras (Capítulo 10).
- IL-25, IL-33 e TSLP estimulam a diferenciação de células T $CD4^+$*naive* na subpopulação Th2 de células efetoras.
- IL-15 promove a sobrevivência das células T $CD8^+$ de memória.
- IL-6 promove a produção de anticorpos por células B ativadas (Capítulo 12).

Adjuvantes são substâncias que precisam ser administradas junto com antígenos proteicos purificados para elicitar respostas imunes dependentes de célula T máximas (Capítulo 6). Atuam estimulando as respostas imunes inatas no sítio de exposição antigênica. Os adjuvantes são úteis em imunologia experimental e para as vacinas clínicas. Muitos adjuvantes em uso experimental são produtos microbianos que engajam TLRs, como micobactérias mortas e LPS. O único adjuvante usado de forma rotineira em vacinas humanas é o alúmen, que é composto por hidróxido de alumínio ou fosfato de alumínio e serve de estímulo para ativação do inflamassomo. Entre seus efeitos importantes, os adjuvantes ativam DCs a expressarem mais moléculas de histocompatibilidade principal que fazem parte do antígeno (sinal 1) reconhecido pelas células T, além de aumentarem a expressão de coestimuladores (sinal 2) e citocinas necessárias à ativação da célula T, e estimularem a migração das DCs para os linfonodos onde as células T estão localizadas.

Mecanismos que Limitam as Respostas Imunes Inatas

A magnitude e a duração das respostas imunes inatas são reguladas por vários mecanismos inibidores que limitam o potencial dano aos tecidos. Embora a resposta inflamatória seja essencialmente importante para a proteção contra os microrganismos, ela tem o potencial de causar lesão tecidual e doença. Foram desenvolvidos vários mecanismos para frear inflamação, os quais entram em cena ao mesmo tempo ou pouco após a iniciação da inflamação. Adicionalmente, os estímulos para a iniciação de muitos desses mecanismos de controle incluem os mesmos PAMPs e DAMPs indutores de inflamação. Descreveremos um grupo seleto destes mecanismos reguladores.

A IL-10 é uma citocina que é produzida por macrófagos e DCs e que inibe sua ativação. A IL-10 inibe a produção de várias citocinas inflamatórias por macrófagos e DCs ativadas, incluindo IL-1, TNF e IL-12. Por ser produzida por macrófagos e DCs e também inibir as funções dessas células, a IL-10 é um excelente exemplo de regulador por *feedback* negativo. Os macrófagos alternativamente ativados produzem mais IL-10 do que os macrófagos classicamente ativados. A IL-10 é produzida por alguns tipos celulares não linfoides (p. ex.: queratinócitos). A IL-10 também é produzida por células T reguladoras, e os detalhes referentes à IL-10 neste contexto serão discutidos no Capítulo 15. As mutações com "perda de função" envolvendo o receptor de IL-10 resultam no desenvolvimento de colite grave durante a infância.

Os fagócitos mononucleares produzem um antagonista natural de IL-1, estruturalmente homólogo à citocina, o qual se liga aos mesmos receptores, mas é biologicamente inativo, de modo a atuar como inibidor competitivo da IL-1. Sendo assim, foi denominado **antagonista do receptor de IL-1 (IL-1RA)**. A síntese de IL-1 RA é induzida por muitos dos mesmos estímulos que induzem a produção de IL-1, sendo que alguns estudos realizados com camundongos deficientes de IL-1RA sugerem que essa citocina inibidora é requerida para prevenir doenças inflamatórias das articulações e outros tecidos. O IL1-RA recombinante foi desenvolvido como fármaco para uso no tratamento da artrite reumatoide e das síndromes febris familiares em que a produção de IL-1 está desregulada. A regulação da inflamação mediada pela IL-1 também é possível, por meio da expressão do receptor tipo II, que se liga à IL-1 sem que haja transdução de sinal de ativação. A principal função desse receptor pode atuar como uma "isca" que inibe de modo competitivo a ligação de IL-1 ao receptor sinalizador de tipo I.

A secreção de citocinas inflamatórias a partir de vários tipos celulares parece ser regulada por produtos de genes de autofagia. Mutações dirigidas em genes de autofagia distintos resultam em intensificação da secreção de IL-1 e IL-18 por vários tipos celulares e no desenvolvimento de enteropatia inflamatória. Os mecanismos pelos quais as proteínas de autofagia impedem a síntese de citocina são pouco conhecidos, podendo talvez regular a ativação do inflamassomo ou a produção de espécies reativas de oxigênio. A ligação de polimorfismos em um gene de autofagia humano com a enteropatia inflamatória pode ser devido ao fato de essas proteínas afetarem a inflamação ou a integridade epitelial.

Existem numerosas vias de sinalização reguladoras negativas que bloqueiam os sinais ativadores gerados pelos receptores de reconhecimento de padrão e citocinas inflamatórias. As proteínas supressoras da sinalização de citocina (SOCS, do inglês, *suppressors of cytokine signaling*) são inibidores das vias de sinalização JAK-STAT associadas aos receptores de citocina. A sinalização de TLR em macrófagos e DCs induz a expressão das proteínas SOCS, e isso limita as respostas dessas células a citocinas exógenas, como os interferons do tipo I. As respostas pró-inflamatórias das células à sinalização de TLR são negativamente reguladas por SHP-1, uma proteína fosfatase intracelular que regula negativamente numerosas vias de sinalização dependentes de tirosina quinase em linfócitos. Há muitos outros exemplos de quinases e fosfatases que inibem a sinalização de TLR, NLR e RLR, bem como pequenos RNAs inibidores que inibem a produção de muitos mediadores da imunidade inata.

Resumo

- O sistema imune inato fornece a primeira linha de defesa do hospedeiro contra microrganismos, antes de as respostas imunes adaptativas terem tempo suficiente para se desenvolver. Os mecanismos de imunidade inata existem antes da exposição aos microrganismos. Os componentes celulares do sistema imune inato incluem as barreiras epiteliais e os leucócitos (neutrófilos, macrófagos, células NK, linfócitos com receptores antigênicos invariáveis e mastócitos).
- O sistema imune inato usa receptores de reconhecimento de padrão associado à célula, presentes nas membranas plasmática e endossômica, bem como no citosol, para reconhecer estruturas chamadas PAMPs, que são compartilhadas pelos microrganismos, estão ausentes nas células dos mamíferos e frequentemente são essenciais para a sobrevivência dos microrganismos, limitando assim a capacidade destes de escaparem da detecção por meio de mutação ou da perda de expressão dessas moléculas. Em adição, esses receptores reconhecem moléculas produzidas pelo hospedeiro, mas cuja expressão ou localização indica dano celular — os chamados DAMPs.
- Os TLRs, presentes na superfície celular e nos endossomos, constituem a família mais importante de receptores de reconhecimento de padrão, identificando uma ampla variedade de ligantes que incluem componentes de parede celular bacteriana e ácidos nucleicos microbianos. Existem receptores de reconhecimento de padrão citosólicos que reconhecem moléculas microbianas. Esses receptores incluem os RLRs, que identificam RNA viral; CDSs, que reconhecem DNA microbiano; e NLRs, que reconhecem constituintes de parede celular bacteriana e também atuam como componentes de reconhecimento de muitos inflamassomos.
- Os receptores de reconhecimento de padrão, incluindo os TLRs, NLRs e RLRs, sinalizam para ativar os fatores de transcrição NF-κB e AP-1, que estimulam a expressão de citocinas, coestimuladores e outras moléculas envolvidas na inflamação, bem como os fatores de transcrição IRF, que estimulam a expressão de genes de interferon do tipo I antiviral.
- O inflamassomo, um complexo enzimático especializado contendo caspase-1, que se forma em resposta a uma ampla variedade de PAMPs e DAMPs, inclui estruturas de reconhecimento frequentemente pertencentes à família de proteínas NLR, um adaptador e a enzima caspase-1, cuja principal função é produzir formas ativas das citocinas inflamatórias IL-1 e IL-18.
- Moléculas solúveis de reconhecimento de padrão e efetoras são encontradas no plasma, incluindo as pentraxinas (p. ex.: CRP), colectinas (p. ex.: MBL) e ficolinas. Essas moléculas se ligam a ligantes microbianos e intensificam sua depuração por mecanismos dependentes e independentes de complemento.
- As células linfoides inatas são células com morfologia de linfócito e funções similares as dos linfócitos T, que não expressam os receptores antigênicos da célula T clonalmente distribuídos. Três subpopulações auxiliares de ILCs secretam as mesmas citocinas que as células T auxiliares Th1, Th2 e Th17.
- As células NK são um tipo de células linfoides inatas com funções citotóxicas e que secretam IFN-γ, de modo similar aos CTLs. As células NK promovem a defesa contra microrganismos intracelulares, matando células infectadas e fornecendo uma fonte da citocina ativadora de macrófagos IFN-γ. O reconhecimento pela célula NK das células infectadas é regulado por uma combinação de receptores ativadores e inibidores. Os receptores inibidores reconhecem moléculas de MHC de classe I, porque as células NK normalmente não matam as células normais do hospedeiro, mas matam as células com expressão diminuída de MHC de classe I, como as células infectadas por vírus.
- O sistema complemento inclui várias proteínas plasmáticas que são ativadas de maneira sequencial, por clivagem proteolítica, para a geração de fragmentos das proteínas C3 e C5. Esses fragmentos promovem inflamação ou opsonizam e promovem fagocitose de microrganismos. A ativação do complemento também gera poros na membrana que matam alguns tipos de bactérias. O sistema complemento é ativado nas superfícies microbianas e não nas células normais do hospedeiro, uma vez que os microrganismos não expressam as moléculas reguladoras que inibem o complemento. Nas respostas imunes inatas, o complemento é ativado

principalmente de forma espontânea, nas superfícies celulares microbianas, e pela lectina ligante de manose, para iniciar as vias alternativa e da lectina, respectivamente.

- As duas funções efetoras principais da imunidade inata são induzir inflamação, que envolve a distribuição de leucócitos destruidores de microrganismos, bem como de moléculas efetoras solúveis, do sangue para os tecidos; e bloquear a infecção viral das células com as ações antivirais dos interferons do tipo I. Ambos os tipos de mecanismos efetores são induzidos por PAMPs e DAMPs.
- Várias citocinas produzidas principalmente por macrófagos, DCs e outras células imunes inatas medeiam a inflamação. TNF e IL-1 ativam as células endoteliais, estimulam a produção de quimiocinas, e aumentam a produção de neutrófilos na medula óssea. IL-1 e TNF induzem, ambos, produção de IL-6. Essas três citocinas medeiam os efeitos sistêmicos, incluindo febre e síntese de proteínas de fase aguda pelo fígado. IL-12 e IL-18 estimulam a produção da citocina ativadora de macrófago, IFN-γ, por células NK e células T. Essas citocinas atuam nas respostas imunes inatas a diferentes classes de microrganismos, e algumas (IL-1, IL-6, IL-12, IL-18) modificam as respostas imunes adaptativas que se seguem à resposta imune inata.
- Neutrófilos e monócitos (precursores dos macrófagos teciduais) migram do sangue para os sítios inflamatórios durante as respostas imunes inatas, devido aos efeitos das citocinas e quimiocinas produzidas pelas células teciduais estimuladas por PAMPs e DAMPs.
- Neutrófilos e macrófagos fagocitam microrganismos e os matam produzindo ROS, óxido nítrico e enzimas nos fagolisossomos. Os macrófagos também produzem citocinas que estimulam a inflamação e promovem reparo tecidual em sítios de infecção. Os fagócitos reconhecem e respondem aos produtos microbianos através de vários tipos distintos de receptores, entre os quais TLRs, lectinas tipo C, receptores *scavenger* e receptores de *N*-formil-met-leu-phe.
- Moléculas produzidas durante as respostas imunes inatas estimulam a imunidade adaptativa e influenciam a natureza das respostas imunes adaptativas. As DCs ativadas por microrganismos produzem citocinas e coestimuladores que intensificam a ativação da célula T e a diferenciação em células T efetoras. Fragmentos de complemento gerados pela via alternativa fornecem os segundos sinais para ativação da célula B e produção de anticorpo.
- As respostas imunes inatas são reguladas por mecanismos de *feedback* negativo que limitam o potencial dano aos tecidos. A IL-10 é uma citocina produzida por macrófagos e DCs, e que inibe a ativação destas mesmas células. A secreção de citocinas inflamatórias é regulada por produtos de genes de autofagia. As vias de sinalização negativa bloqueiam os sinais de ativação gerados pelos receptores de reconhecimento de padrão e citocinas inflamatórias.

Referências Sugeridas

Receptores de Reconhecimento de Padrão

Barbe F, Douglas T, Saleh M. Advances in Nod-like receptors (NLR) biology. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2014;25:681–697.

Blasius AL, Beutler B. Intracellular toll-like receptors. *Immunity*. 2010;32:305–315.

Buchmann K. Evolution of innate immunity: clues from invertebrates via fish to mammals. *Front Immunol*. 2014;5:459.

Cai X, Chiu YH, Chen ZJ. The cGAS-cGAMP-STING pathway of cytosolic DNA sensing and signaling. *Mol Cell*. 2014;54:289–296.

Chen G, Shaw MH, Kim YG, Nunez G. NOD-like receptors: role in innate immunity and inflammatory disease. *Annu Rev Pathol*. 2009;4:365–398.

Dambuza IM, Brown GD. C-type lectins in immunity: recent developments. *Curr Opin Immunol*. 2015;32:21–27.

Eberl G, Colonna M, Di Santo JP, McKenzie AN. Innate lymphoid cells. Innate lymphoid cells: a new paradigm in immunology. *Science*. 2015;348: aaa6566-1-8.

Elinav E, Strowig T, Henao-Mejia J, Flavell RA. Regulation of the antimicrobial response by NLR proteins. *Immunity*. 2011;34:665–679.

Goubau D, Deddouche S, Reis e Sousa C. Cytosolic sensing of viruses. *Immunity*. 2013;38:855–869.

Hornung V, Latz E. Intracellular DNA recognition. *Nat Rev Immunol*. 2010;10:123–130.

Ip WK, Takahashi K, Ezekowitz RA, Stuart LM. Mannose-binding lectin and innate immunity. *Immunol Rev*. 2009;230:9–21.

Jeannin P, Jaillon S, Delneste Y. Pattern recognition receptors in the immune response against dying cells. *Curr Opin Immunol*. 2008;20:530–537.

Kawai T, Akira S. Toll-like receptors and their crosstalk with other innate receptors in infection and immunity. *Immunity*. 2011;34:637–650.

Osorio F, Reis e Sousa C. Myeloid C-type lectin receptors in pathogen recognition and host defense. *Immunity*. 2011;34:651–664.

Paludan SR, Bowie AG. Immune sensing of DNA. *Immunity*. 2013;38:870–880.

Radoshevich L, Dussurget O. Cytosolic innate immune sensing and signaling upon infection. *Front Microbiol*. 2016;7:313.

Takeuchi O, Akira S. Pattern recognition receptors and inflammation. *Cell*. 2010;140:805–820.

Yoneyama M, Onomoto K, Jogi M, et al. Viral RNA detection by RIG-I-like receptors. *Curr Opin Immunol*. 2015;32:48–53.

Yuan J, Najafov A, Py BF. Roles of caspases in necrotic cell death. *Cell*. 2016;167:1693–1704.

Células do Sistema Imune Inato

Borregaard N. Neutrophils, from marrow to microbes. *Immunity*. 2010;33:657–670.

Dale DC, Boxer L, Liles WC. The phagocytes: neutrophils and monocytes. *Blood*. 2008;112:935–945.

Juelke K, Romagnani C. Differentiation of human innate lymphoid cells (ILCs). *Curr Opin Immunol*. 2016;38:75–85.

Lanier LL. NK cell recognition. *Annu Rev Immunol*. 2005;23:225–274.

Murray PJ, Wynn TA. Protective and pathogenic functions of macrophage subsets. *Nat Rev Immunol*. 2011;11:723–737.

Nauseef WM. How human neutrophils kill and degrade microbes: an integrated view. *Immunol Rev*. 2007;219:88–102.

Segal AW. How neutrophils kill microbes. *Annu Rev Immunol*. 2005;23:197–223.

Serbina NV, Jia T, Hohl TM, Pamer EG. Monocyte-mediated defense against microbial pathogens. *Annu Rev Immunol*. 2008;26:421–452.

Sonnenberg GF, Artis D. Innate lymphoid cells in the initiation, regulation and resolution of inflammation. *Nat Med*. 2015;21:698–

708.

Underhill DM, Ozinsky A. Phagocytosis of microbes: complexity in action. *Annu Rev Immunol*. 2002;20:825–852.

Vivier E, Tomasello E, Baratin M, et al. Functions of natural killer cells. *Nat Immunol*. 2008;9:503–510.

Walker JA, Barlow JL, McKenzie AN. Innate lymphoid cells—how did we miss them? *Nat Rev Immunol*. 2013;13:75–87.

Moléculas Efetoras e Respostas Inflamatórias da Imunidade Inata

Bottazzi B, Doni A, Garlanda C, Mantovani A. An integrated view of humoral innate immunity: pentraxins as a paradigm. *Annu Rev Immunol*. 2010;28:157–183.

Klotman ME, Chang TL. Defensins in innate antiviral immunity. *Nat Rev Immunol*. 2006;6:447–456.

Lamkanfi M, Dixit VM. Inflammasomes and their roles in health and disease. *Annu Rev Cell Dev Biol*. 2012;28:137–161.

Linden SK, Sutton P, Karlsson NG, et al. Mucins in the mucosal barrier to infection. *Mucosal Immunol*. 2008;1:183–197.

Netea MG, Joosten LA, Latz E, et al. Trained immunity: a program of innate immune memory in health and disease. *Science*. 2016;352:aaf1098.

Rock KL, Latz E, Ontiveros F, Kono H. The sterile inflammatory response. *Annu Rev Immunol*. 2010;28:321–342.

Schroder K, Tschopp J. The inflammasomes. *Cell*. 2010;140:821–832.

Selsted ME, Ouellette AJ. Mammalian defensins in the antimicrobial immune response. *Nat Immunol*. 2005;6:551–557.

Sims JE, Smith DE. The IL-1 family: regulators of immunity. *Nat Rev Immunol*. 2010;10:89–102.

van de Wetering JK, van Golde LM, Batenburg JJ. Collectins: players of the innate immune system. *Eur J Biochem*. 2004;271:1229–1249.

Doenças Causadas pela Imunidade Inata

Angus DC, van der Poll T. Severe sepsis and septic shock. *NEJM*. 2013;369:2063.

Cinel I, Opal SM. Molecular biology of inflammation and sepsis: a primer. *Crit Care Med*. 2009;37:291–304.

Masters SL, Simon A, Aksentijevich I, Kastner DL. Horror autoinflammaticus: the molecular pathophysiology of autoinflammatory disease. *Annu Rev Immunol*. 2009;27:621–668.

Weighardt H, Holzmann B. Role of Toll-like receptor responses for sepsis pathogenesis. *Immunobiology*. 2007;212:715–722.

CAPÍTULO 5

Anticorpos e Antígenos

ESTRUTURA DO ANTICORPO
- Características Gerais da Estrutura dos Anticorpos
- Características Estruturais das Regiões Variáveis dos Anticorpos
- Características Estruturais das Regiões Constantes dos Anticorpos
- Anticorpos Monoclonais

SÍNTESE, MONTAGEM E EXPRESSÃO DAS MOLÉCULAS DE IMUNOGLOBULINA
- Meia-vida dos Anticorpos

LIGAÇÃO DOS ANTICORPOS AOS ANTÍGENOS
- Características dos Antígenos Biológicos
- Bases Estrutural e Química da Ligação Antigênica

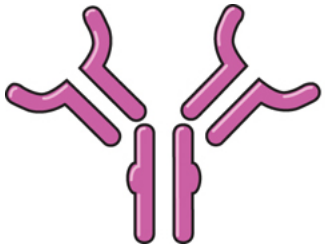
RELAÇÕES ESTRUTURA-FUNÇÃO NAS MOLÉCULAS DE ANTICORPOS
- Características Relacionadas ao Reconhecimento do Antígeno
- Características Relacionadas às Funções Efetoras

RESUMO

Anticorpos são proteínas circulantes produzidas em vertebrados em resposta à exposição a estruturas estranhas conhecidas como antígenos, e são os mediadores da imunidade humoral contra todas as classes de microrganismos. Os anticorpos são extremamente diversos e específicos em sua capacidade de reconhecer estruturas moleculares estranhas. Uma vez que essas proteínas foram descobertas como moléculas séricas que conferiam proteção contra a toxina diftérica, foram inicialmente chamadas antitoxinas. Quando se descobriu que proteínas semelhantes poderiam ser geradas contra muitas substâncias, não somente toxinas microbianas, essas proteínas receberam o nome geral de **anticorpos**. As substâncias que estimulavam a produção de anticorpos ou eram reconhecidas por eles foram então denominadas **antígenos**. Os anticorpos e os receptores antigênicos das células T (Capítulo 7) são as duas classes de moléculas usadas pelo sistema imune adaptativo para reconhecer especificamente e combater os antígenos (Tabela 5.1). As moléculas do complexo principal de histocompatibilidade (MHC, do inglês *major histocompatibility complex*) também ligam antígenos peptídicos, mas sua especificidade é muito diferente e sua função é expor os peptídeos às células T, não responder aos antígenos (Capítulo 6). Os anticorpos foram o primeiro tipo de molécula de ligação ao antígeno descoberta, reconhecem a mais ampla variedade de estruturas antigênicas, têm a maior capacidade de discriminar entre diferentes antígenos e ligam antígenos com a maior força. Neste capítulo, descreveremos a estrutura e as propriedades de ligação antigênica dos anticorpos.

Tabela 5.1

Características da Ligação ao Antígeno pelos Receptores Antigênicos

Característica	Imunoglobulina (Ig)	Receptor da Célula T (TCR)
		
Sítio de ligação antigênica	Formado por três CDRs no domínio V_H e três CDRs no domínio V_L	Formado por três CDRs no domínio Vα e três CDRs no domínio Vβ (na forma mais comum de TCR)
Natureza do antígeno que pode ser ligado	Macromoléculas (proteínas, lipídeos, polissacarídeos) e pequenos agentes químicos	Complexos peptídeo-MHC
Natureza dos determinantes antigênicos reconhecidos	Determinantes lineares e conformacionais de várias macromoléculas e agentes químicos	Determinantes lineares de peptídeos; somente alguns resíduos de aminoácidos de um peptídeo ligado a uma molécula de MHC
Afinidade da ligação ao antígeno	K_d 10^{-7} – 10^{-11} M; afinidade média das Igs aumenta durante as respostas imunes	K_d 10^{-5} – 10^{-7} M
Taxa de associação e taxa de dissociação	Taxa de associação rápida, taxa de dissociação variável	Taxa de associação lenta, taxa de dissociação lenta

A estrutura e função das moléculas de TCR serão discutidas no Capítulo 7.

CDR, região determinante de complementariedade; K_d, constante de dissociação; *MHC*, complexo principal de histocompatibilidade; V_H, domínio variável da cadeia pesada de Ig; V_L, domínio variável da cadeia leve de Ig.

Os anticorpos são sintetizados somente pelas células da linhagem de linfócitos B e existem em duas formas: anticorpos ligados à membrana na superfície dos linfócitos B que atuam como receptores antigênicos, e anticorpos secretados que atuam na proteção contra microrganismos. O reconhecimento dos antígenos pelos anticorpos ligados à membrana nas células B *naive* ativa esses linfócitos e inicia a resposta imune humoral. As células B ativadas se diferenciam em plasmócitos que secretam anticorpos com a mesma especificidade do receptor antigênico. As formas secretadas dos anticorpos estão presentes no plasma (a porção fluida do sangue), nas secreções mucosas e no fluido intersticial dos tecidos. Na fase efetora da imunidade humoral, esses anticorpos secretados neutralizam toxinas microbianas, previnem a entrada e disseminação dos patógenos e desencadeiam vários mecanismos efetores que eliminam os microrganismos.

A eliminação dos antígenos frequentemente requer a interação do anticorpo com outros componentes do sistema imune, incluindo moléculas como proteínas do complemento, e células como fagócitos e mastócitos. As funções efetoras mediadas pelos anticorpos incluem: neutralização dos microrganismos ou produtos microbianos tóxicos; ativação do sistema complemento; opsonização dos patógenos para aumento da fagocitose; citotoxicidade celular dependente de anticorpo, pela qual os anticorpos têm como alvo células infectadas para a lise pelas células do sistema imune inato; e ativação de mastócitos mediada por anticorpo para expelir vermes parasitas. Descreveremos essas funções dos anticorpos em detalhes no Capítulo 13.

Quando o sangue ou plasma removido de um indivíduo forma um coágulo, os anticorpos permanecem no fluido residual, o que é denominado **soro**. O soro não possui os fatores da coagulação (os quais são consumidos durante a formação do coágulo), mas contém todas as outras proteínas encontradas no plasma. Qualquer amostra de soro que contenha moléculas detectáveis de anticorpo que se ligam a um antígeno em particular é normalmente chamada **antissoro**. O estudo dos anticorpos e suas reações com antígenos é, portanto, chamado **sorologia**. A concentração de moléculas de anticorpo no soro, específicas para um antígeno em particular, é frequentemente estimada pela determinação de quantas diluições seriadas do soro podem ser feitas antes que a ligação não seja mais detectada. Quando determinada por esse método, a concentração do anticorpo é chamada título (após titulação). Quanto

mais diluições são necessárias, maior será o título de moléculas de anticorpo específicas para um antígeno em particular.

Um indivíduo humano adulto e saudável pesando 70 kg produz ao redor de 2 a 3 g de anticorpos a cada dia. Quase dois terços destes correspondem a um anticorpo chamado IgA, a maior parte do qual é produzido por células B ativadas e plasmócitos no trato gastrintestinal.

Estrutura do Anticorpo

O entendimento da estrutura dos anticorpos forneceu importante compreensão de suas funções. A análise da estrutura dos anticorpos também lançou as bases para a elucidação dos mecanismos de diversidade do receptor antigênico que serão abordados em detalhes no Capítulo 8.

Estudos iniciais sobre a estrutura dos anticorpos se basearam em anticorpos purificados do sangue de indivíduos imunizados com vários antígenos. Por meio desse procedimento, não foi possível definir a estrutura do anticorpo com precisão, porque o soro contém uma mistura de diferentes anticorpos produzidos por muitos clones de linfócitos B que podem, cada um, se ligar a diferentes porções (epítopos) de um antígeno. Essas misturas de anticorpos são chamadas de anticorpos policlonais. Um avanço significativo na obtenção de anticorpos cujas estruturas pudessem ser elucidadas foi a descoberta de que pacientes com mieloma múltiplo, um tumor monoclonal de plasmócitos produtores de anticorpo, frequentemente possuem grandes quantidades de moléculas de anticorpo bioquimicamente idênticas (produzidas pelo clone neoplásico) em seu sangue e urina. Os imunologistas mostraram que esses anticorpos poderiam ser purificados pela homogeneidade e então analisados. O reconhecimento de que as células de mieloma produzem imunoglobulinas monoclonais levou ao desenvolvimento da tecnologia de produção de anticorpos monoclonais, descrita mais adiante, neste capítulo. A disponibilidade de populações homogêneas de anticorpos e de plasmócitos produtores de anticorpos monoclonais facilitaram a análise estrutural detalhada das moléculas de anticorpos e a clonagem molecular dos genes de anticorpos individuais. Esses foram importantes avanços em nosso entendimento do sistema imune adaptativo.

Características Gerais da Estrutura dos Anticorpos

Proteínas plasmáticas ou séricas podem ser fisicamente separadas em albuminas e globulinas, com base nas características de solubilidade. Além disso, podem ser separadas com mais precisão conforme as diferenças de carga, utilizando-se uma técnica chamada eletroforese. Nas separações eletroforéticas de soro ou plasma, a maioria dos anticorpos é encontrada no terceiro grupo mais rápido de migração das globulinas, denominado **gamaglobulinas**, referente à terceira letra do alfabeto grego. (Note que as gamablobulinas incluem todas as classes de anticorpos, descritas adiante, não somente a classe IgG). Outra denominação comum para anticorpo é **imunoglobulina (Ig)**, referindo-se à porção que confere imunidade da fração globulina do soro ou do plasma. Os termos *imunoglobulina* e *anticorpo* são usados de maneira intercambiável ao longo deste livro.

Todas as moléculas de anticorpo compartilham as mesmas características estruturais básicas, mas apresentam extraordinária variabilidade nas regiões que se ligam ao antígeno. Essa variabilidade das regiões de ligação ao antígeno explica a capacidade de diferentes anticorpos se ligarem a um enorme número de antígenos estruturalmente diversos. Em todos os indivíduos existem milhões de diferentes clones de células B, cada uma produzindo moléculas de anticorpo com sítios de ligação antigênica idênticos, mas que diferem dos sítios de ligação antigênica dos anticorpos produzidos por outros clones. As funções efetoras e propriedades físico-químicas comuns dos anticorpos estão associadas às porções que não se ligam ao antígeno, as quais exibem relativamente poucas variações entre os diferentes anticorpos.

Uma molécula de anticorpo tem uma estrutura central simétrica composta de duas cadeias leves idênticas e duas cadeias pesadas idênticas (Fig. 5.1). Tanto as cadeias leves quanto as cadeais pesadas contêm uma série de unidades estruturais homólogas repetidas, cada uma com cerca de 110 resíduos de aminoácidos de comprimento, que se dobram independentemente em um motivo globular chamado **domínio Ig**, o qual será apresentado nos Capítulos 3 e 4. Um domínio Ig contém duas camadas de folhas β-pregueadas, cada uma composta de três a cinco fitas de cadeia polipeptídica antiparalelas (Fig. 5.2). As duas camadas são mantidas unidas por uma ponte dissulfeto e as fitas adjacentes de cada folha β são conectadas por pequenas alças. Os aminoácidos localizados em algumas dessas alças são os mais variáveis e críticos para o reconhecimento do antígeno, como discutido adiante neste capítulo.

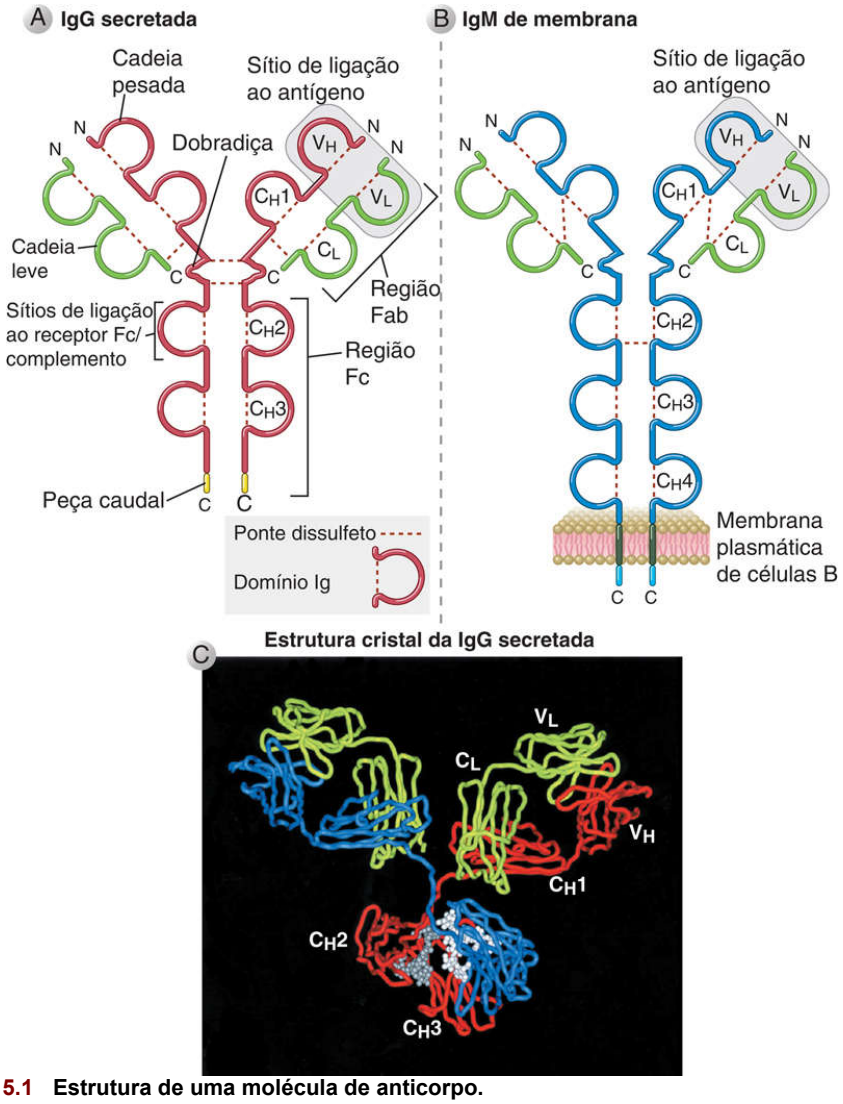


FIGURA 5.1 Estrutura de uma molécula de anticorpo.
A, Diagrama esquemático de uma molécula de IgG secretada. Os sítios de ligação antigênica são formados pela justaposição dos domínios V_L e V_H. As regiões C da cadeia pesada terminam na peça caudal. As localizações dos sítios de ligação do complemento e do receptor Fc dentro das regiões constantes da cadeia pesada são aproximações. **B,** Diagrama esquemático de uma molécula de IgM ligada à membrana na superfície de um linfócito B. A molécula de IgM possui um domínio C_H a mais do que a IgG, e a forma de membrana do anticorpo tem porções C-terminais transmembranares e citoplasmáticas que ancoram a molécula à membrana plasmática. **C,** Estrutura de uma molécula de IgG humana revelada por cristalografia de raios X. Neste diagrama de fita de uma molécula de IgG secretada, as cadeias pesadas, embora idênticas, estão coloridas em azul e vermelho para que possam ser facilmente visualizadas, e as cadeias leves estão coloridas em verde; carboidratos estão mostrados em cinza. (Cortesia do Dr. Alex McPherson, University of California, Irvine.)

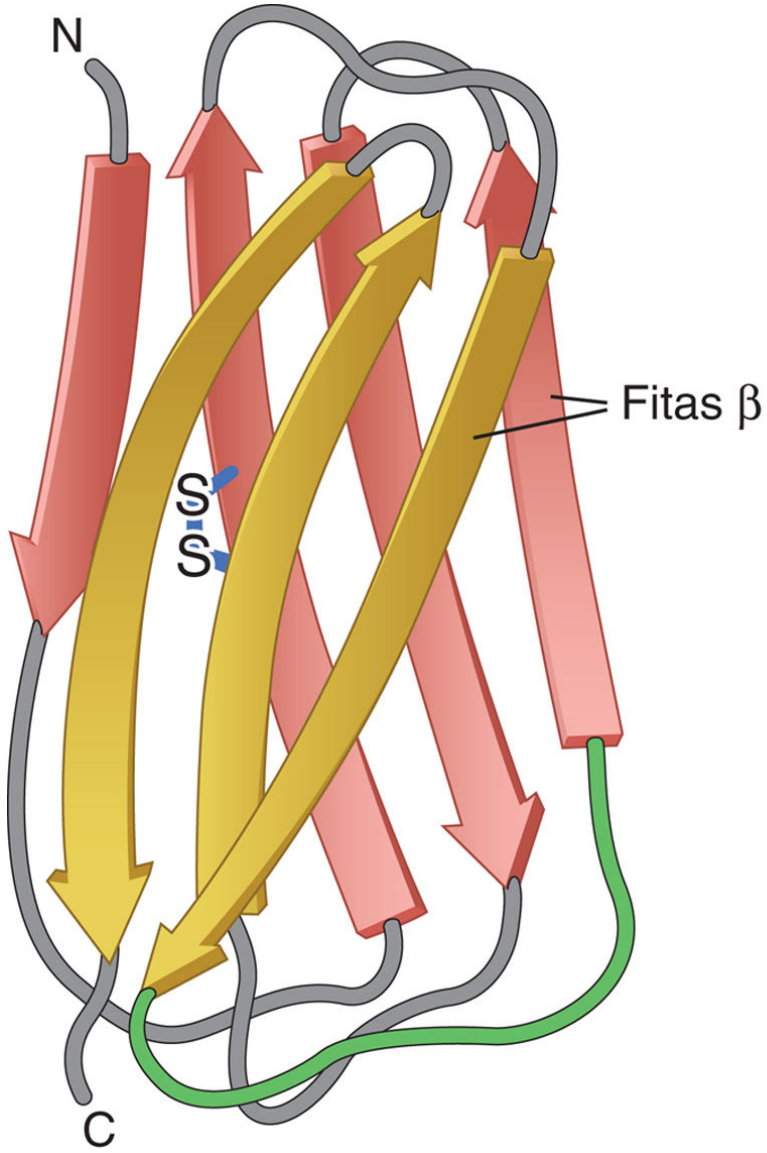


FIGURA 5.2 Estrutura de um domínio Ig.
Cada domínio é composto de duas matrizes antiparalelas de fitas β, coloridas em amarelo e vermelho, para formar duas folhas β-pregueadas mantidas únidas por uma ponte dissulfeto. O diagrama mostra um domínio Ig constante (C) contendo três e quatro fitas β nas duas folhas adjacentes. Note que as alças conectam as fitas β que em alguns casos são adjacentes à mesma folha β-pregueada, mas as alças, algumas vezes, representam as conecções entre as duas folhas diferentes que formam um domínio Ig.

Tanto as cadeias leves quanto as cadeias pesadas consistem em regiões aminoterminais variáveis (V) que participam no reconhecimento do antígeno e regiões carboxiterminais constantes (C); as regiões C das cadeias pesadas ajudam a mediar algumas das funções protetoras e efetoras dos anticorpos. Nas cadeias pesadas, a região V é composta de um domínio Ig e a região C é composta de três ou quatro domínios Ig. Cada cadeia leve é composta de uma região V de domínio Ig e uma região C de domínio Ig. As regiões variáveis são assim chamadas porque suas sequências de aminoácidos variam entre os anticorpos produzidos por diferentes clones de células B. A região V de uma cadeia pesada (V_H) e a região V adjacente de uma cadeia leve (V_L) formam um sítio de ligação ao antígeno (Fig. 5.1). Como a unidade estrutural central de cada molécula de anticorpo contém duas cadeias pesadas e duas cadeias leves, cada molécula de anticorpo possui pelo menos dois sítios de ligação antigênica.

Os domínios Ig da região C estão espacialmente separados dos sítios de ligação ao antígeno e não participam do reconhecimento antigênico. As regiões C da cadeia pesada interagem com outras moléculas e células do sistema imune e, dessa forma, medeiam a maior parte das funções biológicas dos anticorpos, algumas vezes chamadas de funções "efetoras". Além disso, as cadeias pesadas existem em duas formas que diferem nas terminações carboxiterminais: uma forma de cadeia pesada ancora os anticorpos ligados à membrana nas membranas plasmáticas dos linfócitos B, e a outra forma é encontrada somente nos anticorpos secretados. As regiões C das cadeias leves não participam das funções efetoras e não estão diretamente ligadas às membranas celulares.

As cadeias pesadas e leves estão covalentemente ligadas por ligações dissulfeto formadas entre os resíduos de cisteína na porção carboxiterminal da cadeia leve e do domínio C_H1 da cadeia pesada. Interações não covalentes entre os domínios V_L e V_H e entre os domínios C_L e C_H1 também podem contribuir para a associação das cadeias pesadas e leves. As duas cadeias pesadas de cada molécula de anticorpo estão covalentemente ligadas por ligações dissulfeto. Há diferentes tipos de anticorpos, chamados classes ou isotipos, os quais possuem diferentes estruturas de cadeia pesada, discutidas em detalhes adiante no capítulo. No isotipo IgG, essas ligações dissulfeto são formadas entre resíduos de cisteína nos domínios C_H2, próximas à região conhecida como dobradiça, descrita mais adiante neste capítulo. Em outros isotipos, as ligações dissulfeto podem ocorrer em diferentes locais. Interações não covalentes (p. ex.: entre os terceiros domínios C_H [C_H3]) também contribuem para o pareamento das cadeias pesadas.

A porção de ligação ao antígeno de uma molécula de anticorpo é a região Fab, e a extremidade C-terminal que está envolvida nas funções efetoras é a região Fc. Essas regiões foram identificadas pela proteólise de moléculas de IgG de coelhos. Nessas moléculas, a região não dobrada da dobradiça entre os domínios C_H1 e C_H2 da cadeia pesada é o segmento mais suscetível à clivagem proteolítica. Se a IgG de coelhos for tratada com a enzima papaína sob condições de proteólise limitada, a enzima age na região de dobradiça e cliva a IgG em três partes separadas (Fig. 5.3A). Duas partes são idênticas uma à outra e consistem na cadeia leve completa (V_L e C_L) associada a um fragmento V_H-C_H1 da cadeia pesada. Esses fragmentos retêm a capacidade de se ligar ao antígeno, porque cada um deles contém domínios V_L e V_H pareados e são chamados **Fab** (fragmento, ligação ao antígeno). A terceira parte é composta de dois peptídeos idênticos ligados por dissulfeto, cada um contendo os domínios C_H2 e C_H3 da cadeia pesada. Essa porção da IgG tem propensão a autoassociar-se e cristalizar em uma estrutura semelhante a uma treliça ou grade, por isso é chamada **Fc** (fragmento, cristalizável). Quando a pepsina (em vez da papaína) é usada para clivar a IgG de coelho sob condições limitadas, a proteólise ocorre distal à região da dobradiça, gerando um fragmento $F(ab')_2$ de IgG com a dobradiça e as ligações dissulfeto intercadeias intactas e dois sítios de ligação ao antígeno idênticos (Fig. 5.3B).

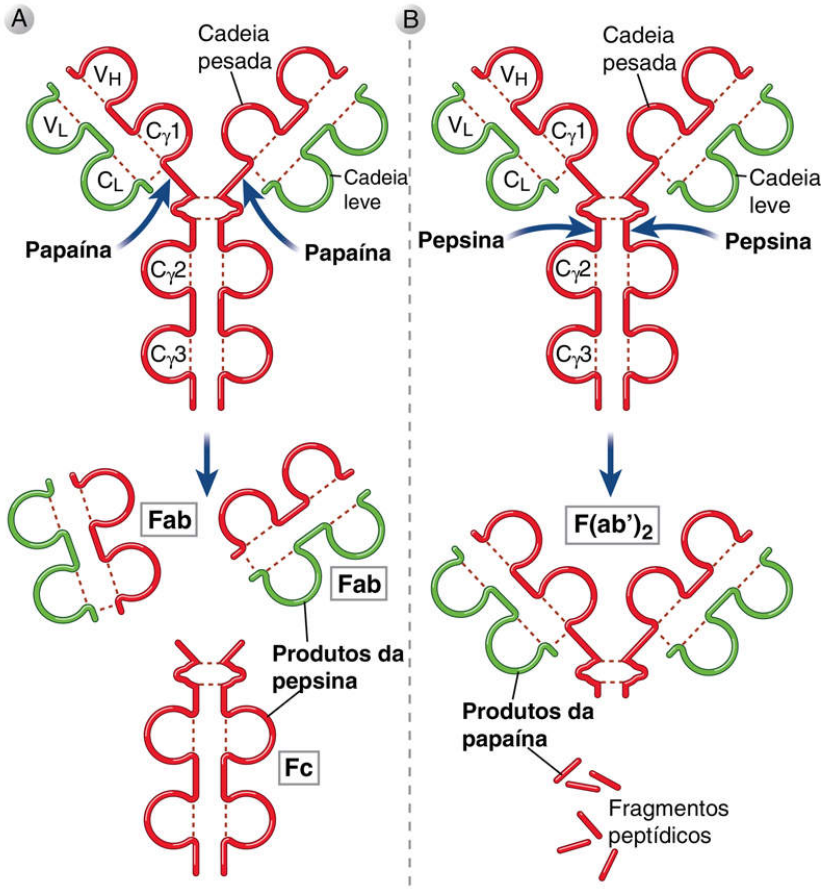


FIGURA 5.3 Fragmentos proteolíticos de uma molécula de IgG.
Moléculas de IgG de coelho são clivadas pelas enzimas papaína **(A)** e pepsina **(B)** nos locais indicados pelas setas. A digestão pela papaína permite a separação de duas regiões de ligação ao antígeno (os fragmentos Fab) da porção da molécula de Ig que se liga ao complemento e aos receptores Fc (o fragmento Fc). A pepsina gera um único fragmento bivalente de ligação ao antígeno, $F(ab')_2$.

A organização básica da molécula de anticorpo deduzida a partir dos experimentos de proteólise de IgG de coelhos é comum a todas as moléculas de Ig de todas as classes e de todas as espécies. Os termos Fab, $F(ab')_2$ e Fc são amplamente usados para descrever essas diferentes porções dos anticorpos humanos e murinos. De fato, esses experimentos forneceram a primeira evidência de que as funções de reconhecimento do antígeno e as funções efetoras das moléculas de Ig são espacialmente separadas.

Muitas outras proteínas no sistema imune, assim como numerosas proteínas sem função imunológica conhecida, contêm domínios com uma estrutura de dobra da Ig — isto é, duas folhas β-pregueadas adjacentes mantidas unidas por uma ponte dissulfeto. Todas as moléculas que possuem esse tipo de domínio pertencem à **superfamília de Ig** e acredita-se que todos os segmentos gênicos que codificam os domínios Ig dessas moléculas evoluíram a partir de um gene ancestral. Os domínios Ig são classificados como do tipo V ou do tipo C, com base na homologia próxima ao domínio V ou domínio C da Ig. Os domínios V são formados por um polipeptídeo mais longo do que os domínios C e contêm duas fitas β extras dentro do sanduíche de folhas β. Alguns membros da superfamília de Ig foram descritos no Capítulo 3 (as moléculas de adesão endotelial ICAM-1 e VCAM-1) e no Capítulo 4 (os receptores KIR da célula NK). Exemplos de membros da superfamília de Ig de relevância no sistema imune são descritos na Figura 5.4.

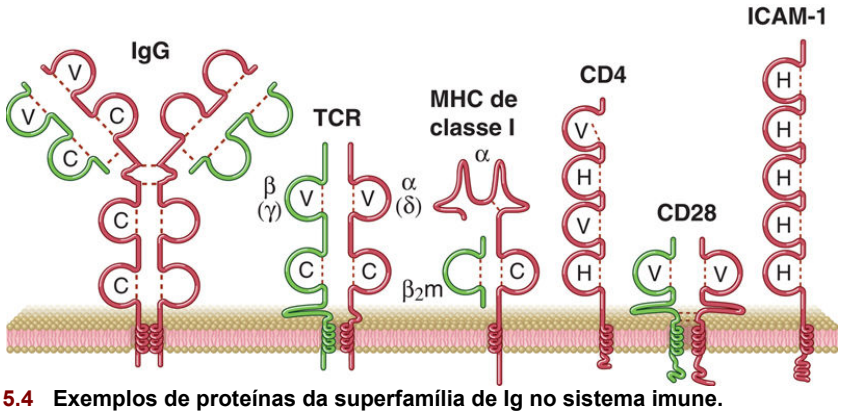


FIGURA 5.4 Exemplos de proteínas da superfamília de Ig no sistema imune.
São mostrados aqui: uma molécula de IgG ligada à membrana; o receptor da célula T; uma molécula de MHC de classe I; o correceptor CD4 das células T; CD28, um receptor coestimulador das células T; e a molécula de adesão ICAM-1.

Características Estruturais das Regiões Variáveis dos Anticorpos

A maioria das diferenças de sequência e variabilidade entre os diferentes anticorpos está restrita a três trechos curtos na região V da cadeia pesada e a três trechos na região V da cadeia leve. Esses segmentos de maior diversidade são conhecidos como **regiões hipervariáveis**. Eles correspondem a três alças protuberantes conectando fitas adjacentes das folhas β que compõem os domínios V das proteínas das cadeias pesada e leve de Ig (Fig. 5.5). As regiões hipervariáveis têm, cada uma, 10 resíduos de aminoácidos de comprimento e são mantidas no lugar pelas sequências estruturais mais conservadas que formam o domínio Ig da região V. Em uma molécula de anticorpo, as três regiões hipervariáveis de um domínio V_L e as três regiões hipervariáveis de um domínio V_H são mantidas unidas para criar uma superfície de ligação ao antígeno. As alças hipervariáveis podem ser imaginadas como semelhantes a "dedos" protuberantes de cada domínio variável, com três dedos da cadeia pesada e três dedos da cadeia leve permanecendo unidos para formar o sítio de ligação do antígeno (Fig. 5.6). Pelo fato dessas sequências formarem uma superfície complementar à forma tridimensional do antígeno ligado a elas, as regiões hipervariáveis também são chamadas **regiões determinantes de complementariedade (CDRs**, do inglês *complementarity-determining regions*). Procedentes tanto da região aminoterminal V_L quanto V_H, estas regiões são chamadas CDR1, CDR2 e CDR3, sendo que as CDR3s de ambos os segmentos V_H e V_L são as mais variáveis dentre as CDRs. Conforme discutiremos no Capítulo 8, há mecanismos especiais para a geração de mais diversidade de sequência no CDR3 do que em CDR1 e CDR2. As diferenças na sequência entre as CDRs de diferentes moléculas de anticorpo contribuem para superfícies de interação distintas e, dessa maneira, para as especificidades dos anticorpos individuais. A capacidade de uma região V de se dobrar em um domínio Ig é primordialmente determinada pelas sequências conservadas das regiões estruturais adjacentes aos CDRs. O confinamento da sequência de variabilidade a três trechos curtos permite que a estrutura básica de todos os anticorpos seja mantida, a despeito da variabilidade das especificidades entre os diferentes anticorpos.

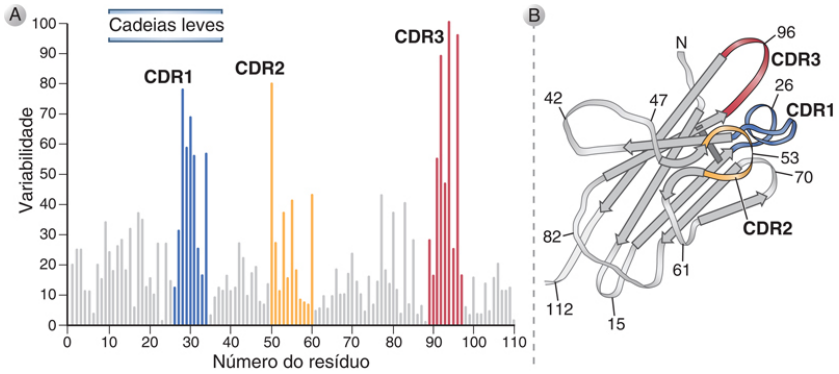


FIGURA 5.5 Regiões hipervariáveis nas moléculas de Ig.
A, As linhas verticais descrevem a dimensão da variabilidade, definida como o número de diferenças em cada resíduo de aminoácido entre várias cadeias leves de Ig sequenciadas independentemente, plotadas em função do número do resíduo de aminoácido, medidos a partir do aminoterminal. Essa análise indica que a maioria dos resíduos variáveis está agrupada em três regiões "hipervariáveis", coloridas em azul, amarelo e vermelho, correspondendo a CDR1, CDR2 e CDR3, respectivamente. Três regiões hipervariáveis também estão presentes nas cadeias pesadas (não mostradas). Essa forma de apresentação da variabilidade dos aminoácidos nas moléculas de Ig chamada *plot* de Kabet-Wu, em nome dos dois cientistas que conceberam o ensaio. **B,** Visão tridimensional das alças CDR hipervariáveis em um domínio V da cadeia leve. A região V de uma cadeia leve é mostrada com as alças CDR1, CDR2 e CDR3, coloridas em azul, amarelo e vermelho, respectivamente. Essas alças correspondem às regiões hipervariáveis no *plot* de variabilidade em **A**. As regiões hipervariáveis da cadeia pesada (não mostradas) também estão localizadas em três alças e todas as seis alças estão justapostas na molécula do anticorpo para formar a superfície de ligação ao antígeno (Fig. 5.6). (**A,** Cortesia do Dr. EA Kabat, Department of Microbiology, Columbia University College of Physicians and Surgeons, New York.)

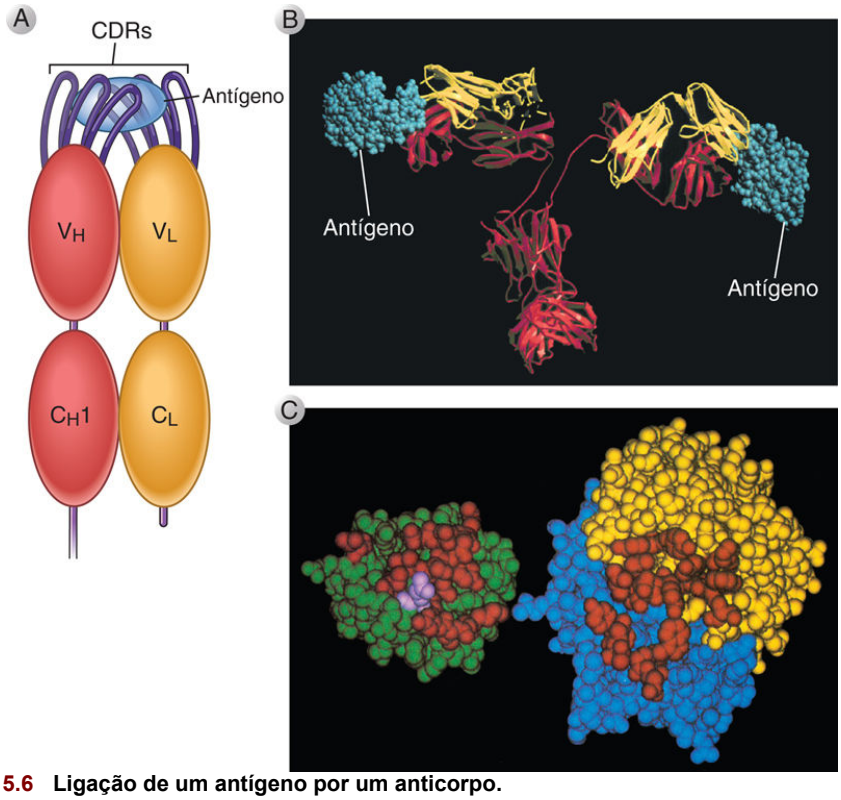


FIGURA 5.6 Ligação de um antígeno por um anticorpo.
A, Visão esquemática das regiões determinantes de complementariedade (CDRs) gerando um local de ligação ao antígeno. As CRDs da cadeia pesada e da cadeia leve são alças que se sobressaem na superfície de dois domínios V da Ig e em combinação, criam uma superfície de ligação ao antígeno. **B,** Este modelo de um antígeno proteico globular (lisozima de ovo de galinha) ligado a uma molécula de anticorpo mostra como o sítio de ligação ao antígeno pode acomodar macromoléculas solúveis em sua conformação nativa (dobrada). As cadeias pesadas do anticorpo são vermelhas, as cadeias leves são amarelas e o antígeno é azul. **C,** Visão das superfícies de interação da lisozima do ovo de galinha (em verde) e um fragmento Fab de um anticorpo monoclonal antilisozima de ovo de galinha (V_H em azul e V_L em amarelo) são mostrados. Os resíduos da lisozima do ovo de galinha e do fragmento Fab que interagem um com o outro são mostrados em vermelho. Um resíduo crítico de glutamina na lisozima (em magenta) se encaixa em uma "fenda" no anticorpo. (**B,** Cortesia do Dr. Dan Vaughn, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, New York. **C,** Reproduzido com permissão de Amit AG, Mariuzza RA, Phillips SE, Poljak RJ: Three dimensional structure of na antigen-antibody complex at 2.8A resolution. Science 233:747–753, 1986. Copyright 1986 by AAAS.)

Análises cristalográficas dos complexos antígeno-anticorpo mostram que os resíduos de aminoácidos das regiões hipervariáveis formam múltiplos contatos com os antígenos ligados (Fig. 5.6). O contato mais extenso ocorre com a terceira região hipervariável (CDR3). Entretanto, a ligação ao antígeno não é exclusivamente uma função dos CDRs e os resíduos do arcabouço também podem fazer contato com o antígeno. Além disso, na ligação a alguns antígenos, um ou mais CDRs podem estar do lado de fora da região de contato com o antígeno, não participando, assim, na ligação ao mesmo.

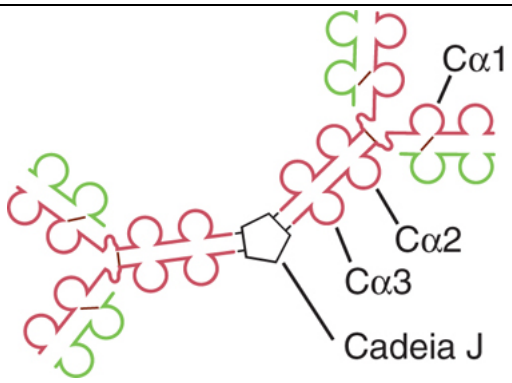
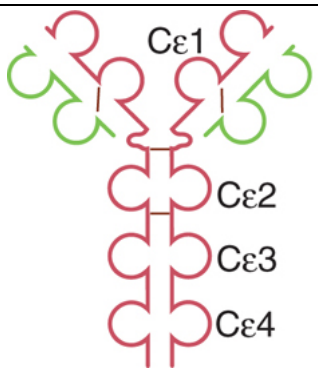
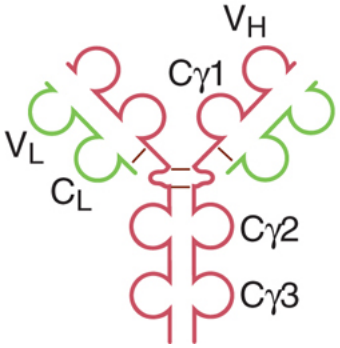
Características Estruturais das Regiões Constantes dos Anticorpos

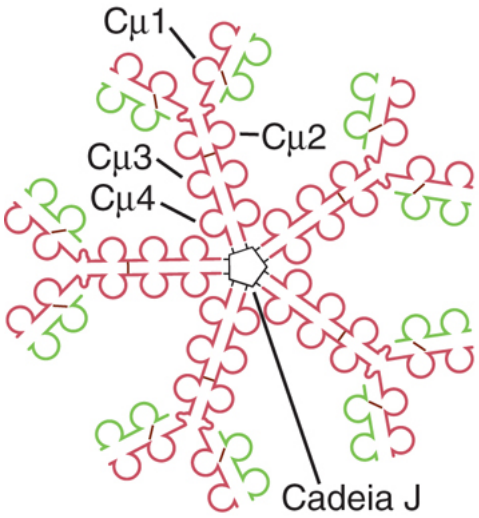
As moléculas de anticorpo podem ser divididas em classes e subclasses distintas com base em diferenças na estrutura de suas regiões C da cadeia pesada. As classes das moléculas de anticorpo são também chamadas de **isotipos** e são nomeadas IgA, IgD, IgE, IgG e IgM (Tabela 5.2). Em humanos, os isotipos IgA e IgG podem ainda ser adicionalmente divididos em subclasses, ou subtipos, intimamente relacionadas, denominadas IgA1 e IgA2 e IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4. (Camundongos, frequentemente usados no estudo das respostas imunes, diferem de humanos no isotipo de IgG, que é dividido nas subclasses IgG1, IgG2a, IgG2b e IgG3; certas linhagens de camundongos, incluindo C57BL/6, não possuem o gene para IgG2a, mas produzem um isotipo relacionado e chamado IgG2c.) As regiões C da

cadeia pesada de todas as moléculas de anticorpo de um isotipo ou subtipo têm essencialmente a mesma sequência de aminoácidos. Essa sequência é diferente nos anticorpos de outros isotipos ou subtipos. As cadeias pesadas são designadas pela letra do alfabeto grego correspondente ao isotipo do anticorpo: a IgA1 contém cadeias pesadas α1; IgA2, α2; IgD, δ; IgE, ε; IgG1, γ1; IgG2, γ2; IgG3, γ3; IgG4, γ4; e IgM, μ. Nos anticorpos IgM e IgE humanos, as regiões C contêm quatro domínios Ig em tandem (Fig. 5.1). As regiões C da IgG, IgA e IgD têm somente três domínios Ig. Esses domínios são genericamente designados como domínios $\mathbf{C_H}$ e são numerados sequencialmente a partir do aminoterminal para o carboxiterminal (p. ex.: C_H1, C_H2 e assim por diante). Em cada isotipo, essas regiões podem ser designadas mais especificamente (p. ex.: Cγ1, Cγ2 na IgG).

Tabela 5.2

Isotipos de Anticorpos Humanos

Isotipo de Anticorpo	Subtipos (Cadeia Pesada)	Concentrações Plasmáticas (mg/mL)	Meia-vida (Dias)	Forma Secretada		Funç
IgA	IgA1,2 (α1 ou α2)	3,5	6	Principalmente dímero; também monômero, trímero		Imur m
IgD	Nenhum (δ)	Traço	3	Monômero		Rece d
IgE	Nenhum (ε)	0,05	2	Monômero		Defe p h h ir
IgG	IgG1-4 (γ1, γ2, γ3 ou γ4)	13,5	23	Monômero		Opso at co ci ce d ar ir n p ce

Isotipo de Anticorpo	Subtipos (Cadeia Pesada)	Concentrações Plasmáticas (mg/mL)	Meia-vida (Dias)	Forma Secretada		Funç
IgM	Nenhum (μ)	1,5	5	Pentâmero		Rece d (f m at c

As funções efetoras dos anticorpos são discutidas em detalhes no Capítulo 13.

Diferentes isotipos e subtipos de anticorpos realizam funções efetoras distintas. A razão para isso é que a maioria das funções efetoras dos anticorpos é mediada pela ligação das regiões C da cadeia pesada aos receptores Fc (FcRs) nas diferentes células, tais como fagócitos, células NK e mastócitos, e em proteínas plasmáticas, como as proteínas do complemento. Os isotipos e subtipos de anticorpos diferem em suas regiões C e, assim, onde eles se ligam e quais funções efetoras realizam. As funções efetoras mediadas por cada isotipo de anticorpo estão listadas na Tabela 5.2 e são discutidas em mais detalhes mais adiante neste capítulo e no Capítulo 13.

As moléculas de anticorpo são flexíveis, permitindo que se liguem a diferentes matrizes de antígenos. Cada anticorpo contém pelo menos dois sítios de ligação ao antígeno, cada um formado por um par de domínios V_H e V_L. Muitas moléculas Ig podem orientar esses sítios de ligação de tal forma que duas moléculas de antígeno em uma superfície planar (p. ex.: célula) podem ser ligadas ao mesmo tempo (Fig. 5.7). Essa flexibilidade é conferida, em grande parte, por uma **região de dobradiça** localizada entre C_H1 e C_H2 de certos isotipos. A região de dobradiça varia em comprimento entre 10 a mais de 60 resíduos de aminoácidos nos diferentes isotipos. Porções dessa sequência assumem uma conformação desdobrada e flexível, permitindo a movimentação molecular entre os domínios C_H1 e C_H2. Algumas das maiores diferenças entre as regiões constantes das subclasses de IgG estão concentradas na dobradiça. Isso leva às diferentes formas gerais dos subtipos de IgG. Além disso, alguma flexibilidade das moléculas de anticorpo é decorrente da capacidade de cada domínio de V_H sofrer rotação em relação ao domínio C_H1 adjacente.

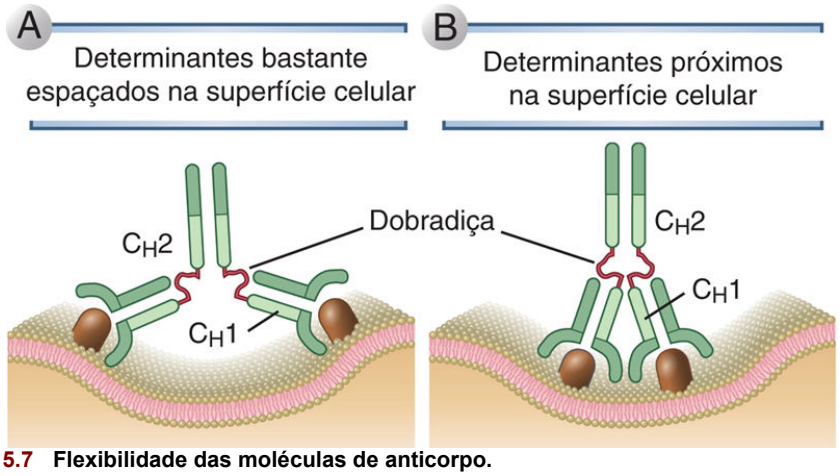


FIGURA 5.7 Flexibilidade das moléculas de anticorpo.
Os dois sítios de ligação ao antígeno de um monômero de Ig podem se ligar simultaneamente a dois determinantes separados por distâncias variadas. Em **(A)** uma molécula de Ig é mostrada ligando-se a dois determinantes bastante espaçados em uma superfície celular, e em **(B)** o mesmo anticorpo está se ligando a dois determinantes que estão próximos. Essa flexibilidade é atribuída principalmente às regiões da dobradiça localizadas entre os domínios C_H1 e C_H2, as quais permite o movimento independentemente dos sítios de ligação ao antígeno em relação ao restante da molécula.

Há duas classes, ou isotipos, de cadeias leves, chamadas κ e λ, que possuem regiões carboxiterminais contantes (C) distintas. Cada molécula de anticorpo tem duas cadeias leves κ idênticas ou duas cadeias leves λ idênticas. Em humanos, cerca de 60% das moléculas de anticorpo têm cadeias leves κ e aproximadamente 40% possuem cadeias leves λ. Alterações marcantes nessa razão podem ocorrer em pacientes com tumores de célula B porque as muitas células neoplásicas, sendo derivadas de um clone de célula B, produzem uma única espécie de moléculas de anticorpo, todas com a mesma cadeia leve. De fato, uma predominância anormal de células portadoras de κ ou de células portadoras de λ é em geral usada clinicamente para o diagnóstico de linfomas de célula B. Em camundongos, anticorpos contendo κ são cerca de 10 vezes mais abundantes do que aqueles contendo λ. Ao contrário dos isotipos de cadeia pesada, não existem diferenças conhecidas na função entre anticorpos contendo κ e aqueles contendo λ.

Anticorpos secretados e associados à membrana diferem na sequência de aminoácidos da porção carboxiterminal da região C da cadeia pesada. A forma secretada, encontrada no sangue, secreções mucosas e outros fluidos extracelulares, contém uma região carboxiterminal hidrofílica chamada peça caudal. A forma ligada à membrana do anticorpo contém uma sequência carboxiterminal que inclui dois segmentos: uma região transmembrana hidrofóbica α-hélice, seguida por uma sequência intracelular justamembranar carregada positivamente (Fig. 5.8). Os aminoácidos carregados positivamente se ligam aos grupos da cabeça fosfolipídica carregados negativamente no folheto interno da membrana plasmática e auxiliam a ancoragem da proteína na membrana. Nas moléculas IgM e IgD de membrana, a porção citoplasmática da cadeia pesada é curta (somente três resíduos de aminoácidos de comprimento); nas moléculas de IgG e IgE de membrana, ela é um pouco mais longa (até 30 resíduos de aminoácidos de comprimento).

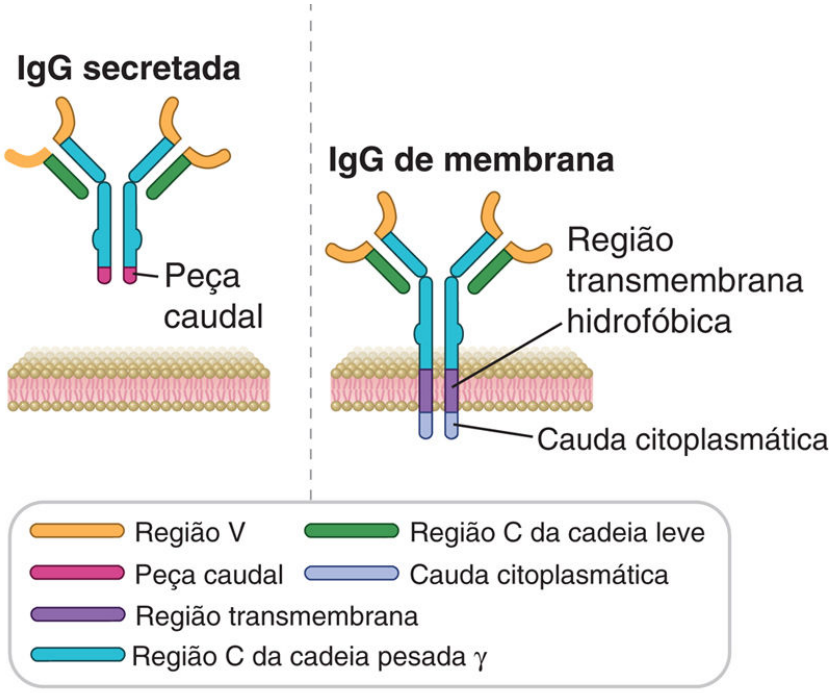


FIGURA 5.8 Formas de membrana e secretadas das cadeias pesadas de Ig.
As formas de membrana das cadeias pesadas de Ig, mas não as formas secretadas, contêm regiões transmembranas compostas de resíduos de aminoácidos hidrofóbicos e domínios citoplasmáticos que diferem significativamente entre os diferentes isotipos. A porção citoplasmática da forma de membrana da cadeia μ contém somente três resíduos, enquanto que a região citoplasmática das cadeias pesadas da IgG (cadeias pesadas γ) contém de 20 a 30 resíduos. As formas secretadas dos anticorpos terminam nas peças caudais C-terminais, as quais também diferem entre os isotipos: μ possui uma peça caudal longa (21 resíduos) que está envolvida na formação do pentâmero, enquanto as IgGs possuem uma peça caudal curta (3 resíduos).

As moléculas de IgG e IgE secretadas e todas as Ig de membrana, independentemente do isotipo, são monoméricas no que diz respeito à unidade estrutural básica do anticorpo (i.e., duas cadeias pesadas e duas cadeias leves). Em contraste, as formas secretadas de IgM e IgA formam complexos multiméricos nos quais dois ou mais núcleos de quatro cadeias de unidades estruturais do anticorpo são unidos covalentemente. A IgM é secretada principalmente como pentâmero, mas também como hexâmero do núcleo de quatro cadeias estruturais, enquanto a IgA é frequentemente secretada como um dímero. Esses complexos são formados por interações entre regiões chamadas peças caudais localizadas na porção carboxiterminal das formas secretadas das cadeias pesadas μ e α (Tabela 5.2). Moléculas multiméricas de IgM e IgA contêm um polipeptídeo adicional de 15 kDa não Ig chamado cadeia juncional (J), o qual é ligado por pontes dissulfeto às peças caudais das regiões C da Ig e serve para estabilizar os complexos multiméricos e para transportar os multímeros através das células epiteliais a partir da porção basolateral para a porção luminal. Como veremos mais adiante, as formas multiméricas dos anticorpos se ligam aos antígenos mais avidamente do que as formas monoméricas.

Os anticorpos de diferentes espécies distinguem-se uns dos outros nas regiões C e em partes da estrutura das regiões V. Dessa maneira, quando moléculas de Ig de uma espécie são introduzidas em outra (p. ex.: anticorpos séricos de cavalo ou anticorpos monoclonais de camundongo injetados em humanos), o organismo do receptor as "enxerga" como estranhas, monta uma resposta imune e produz anticorpos amplamente contra as regiões C da Ig introduzida. Algumas vezes a resposta cria um distúrbio denominado doença do soro (Capítulo 19), a qual limita grandemente a capacidade de tratar indivíduos com anticorpos produzidos em outras espécies. Um grande esforço tem sido feito para superar esse problema, especialmente no tratamento de pacientes com anticorpos monoclonais terapêuticos. Discutiremos esse tema em detalhes mais adiante neste capítulo.

Pequenas diferenças de sequências estão presentes em anticorpos de diferentes indivíduos da mesma espécie, refletindo polimorfismos herdados nos genes que codificam as regiões C das cadeias pesadas e leves da Ig. Quando uma variante polimórfica encontrada em alguns indivíduos de uma espécie pode ser reconhecida por um anticorpo, as variantes são referidas como **alótipos**, e o anticorpo que reconhece um determinante alotípico é chamado anticorpo antialotípico. As diferenças entre as regiões V do anticorpo estão concentradas nos CDRs e constituem os **idiótipos** dos anticorpos. Um anticorpo que reconhece algum aspecto dos CDRs de outro anticorpo é, então, chamado anticorpo anti-idiotípico. Existem teorias interessantes propondo que os indivíduos produzem anticorpos anti-idiotípicos contra seus próprios anticorpos, os quais controlam as respostas imunes, mas há poucas evidências para suportar a importância desse potencial mecanismo de regulação imune.

Anticorpos Monoclonais

Um **anticorpo monoclonal** é uma coleção pura de moléculas de anticorpo idênticas e com a mesma especificidade. Um tumor de plasmócitos (mieloma ou plasmacitoma), assim como a maioria dos tumores de qualquer origem celular, é monoclonal e, dessa maneira, produz anticorpos de uma única especificidade. Na maioria dos casos, a especificidade do anticorpo derivado do tumor não é conhecida, de maneira que o anticorpo do mieloma não pode ser usado para detectar ou ligar moléculas de interesse. Entretanto, a descoberta de anticorpos monoclonais produzidos por esses tumores levou à ideia de que seria possível produzir anticorpos monoclonais similares de qualquer especificidade desejada, pela imortalização de células secretoras de anticorpo individuais de um animal imunizado com um antígeno conhecido. Uma técnica para realizar isso foi descrita por Georges Kohler e Cesar Milstein, em 1975, e se provou um dos avanços mais valiosos em toda a pesquisa científica e medicina clínica. O método se baseia na fusão das células B de um animal imunizado (tipicamente um camundongo) com uma linhagem celular imortalizada de mieloma, seguido pelo crescimento dessas células sob condições nas quais as células normais e as células tumorais que não se fundiram não possam sobreviver (Fig. 5.9). As células fundidas resultantes que crescem são chamadas **hibridomas**, porque são híbridas de células B normais e de um mieloma. Cada hibridoma produz somente uma Ig, derivada de uma célula B do animal imunizado. Os anticorpos secretados por vários clones de hibridomas são triados para ligação a um antígeno de interesse e o clone com a especificidade desejada é selecionado e expandido. Os produtos desses clones individuais são anticorpos monoclonais e cada anticorpo é específico para um único epítopo no antígeno usado para imunizar o animal.

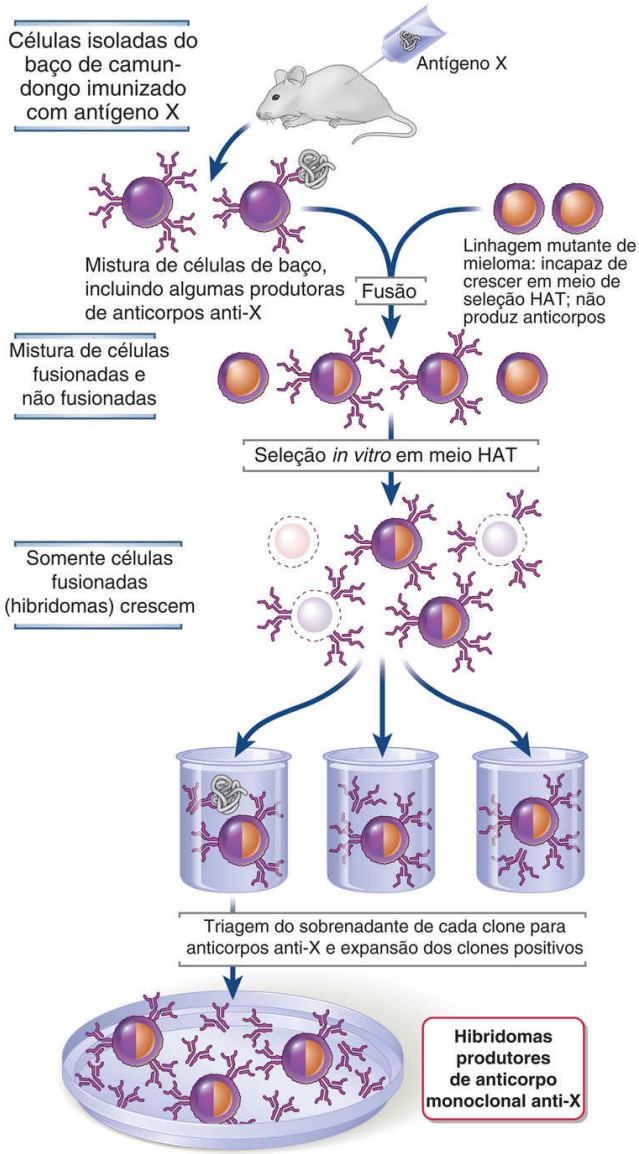


FIGURA 5.9 Geração dos anticorpos monoclonais.
Neste procedimento, células do baço de um camundongo que foi imunizado com um antígeno conhecido ou uma mistura de antígenos são fusionados com uma linhagem celular parceira de mieloma deficiente em enzima, pelo uso de agentes químicos como polietilenoglicol, que podem facilitar a fusão das membranas plasmáticas e a formação de células híbridas que retêm muitos cromossomos de ambos os parceiros fusionados. O parceiro mieloma usado não secreta sua própria Ig. Essas células híbridas são, então, colocadas em um meio de seleção que permite somente a sobrevivência dos híbridos imortalizados; essas células híbridas são colocadas para crescer como clones de células únicas e testadas para a secreção do anticorpo de interesse. O meio de seleção inclui hipoxantina, aminopterina e timidina, sendo por isso chamado meio HAT. Existem duas vias de síntese de purinas na maioria das células, a via *de novo*, que necessita de tetraidrofolato, e a via de salvamento, que usa a enzima hipoxantina-guanina fosforibosiltransferase (HGPRT). As células de mieloma que perderam a HGPRT são utilizadas como parceiros de fusão e elas normalmente sobrevivem usando a síntese *de novo* das purinas. Na presença de aminopterina, o tetraidrofolato não é produzido, resultando em defeito na síntese *de novo* das purinas e também em um defeito específico na biossíntese de pirimidina, isto é, na geração de TMP a partir de dUMP. As células híbridas recebem a HGPRT dos esplenócitos e têm a capacidade de proliferar descontroladamente do parceiro mieloma; se a hipoxantina e a timidina foram adicionadas, essas células podem produzir DNA na ausência de tetraidrofolato. Como resultado, somente as células híbridas sobrevivem no meio HAT.

Há inúmeras aplicações dos anticorpos monoclonais na pesquisa, no diagnóstico médico e na terapia. Algumas das suas aplicações comuns incluem:

- ***Identificação de marcadores fenotípicos únicos a tipos celulares particulares***. A base para a classificação moderna dos linfócitos e outros leucócitos é o reconhecimento de populações celulares individuais por meio de anticorpos monoclonais específicos. Esses anticorpos têm sido usados para definir os marcadores dos grupamentos de diferenciação (CD, do inglês *clusters of differentiation*) para vários tipos celulares (Capítulo 2 e Apêndice II).
- ***Imunodiagnóstico***. O diagnóstico de muitas doenças infecciosas e sistêmicas se baseia na detecção de antígenos ou anticorpos particulares no sangue, urina ou tecidos, pelo uso de anticorpos monoclonais em imunoensaios (Apêndice III).
- ***Identificação tumoral***. Anticorpos monoclonais marcados e específicos para várias proteínas celulares são usados para determinar a fonte tecidual dos tumores por meio da coloração de seções histológicas de tumores.
- ***Terapia***. Avanços na pesquisa médica levaram à identificação de células e moléculas que estão envolvidas na patogênese de muitas doenças. Em razão de sua extraordinária especificidade, os anticorpos monoclonais fornecem os meios para detecção dessas células e moléculas. Muitos anticorpos monoclonais são utilizados terapeuticamente, hoje em dia (Tabela 5.3). Alguns exemplos incluem anticorpos contra a citocina fator de necrose tumoral (TNF, do inglês *tumor necrosis factor*), usados para o tratamento da artrite reumatoide e outras doenças inflamatórias; anticorpos contra CD20, para o tratamento de leucemias derivadas de célula B e para a depleção das células B em certos distúrbios autoimunes; anticorpos contra receptores do fator de crescimento epidermal, como alvo de células cancerígenas; anticorpos contra o fator de crescimento endotelial vascular (uma citocina que promove angiogênese) em pacientes com degeneração macular; e assim por diante.
- ***Análise funcional de moléculas da superfície celular e secretadas***. Na pesquisa biológica, os anticorpos monoclonais que se ligam a moléculas da superfície celular, estimulando ou inibindo funções celulares em particular, são ferramentas valiosas para a definição das funções dessas moléculas, incluindo dos receptores antigênicos. Anticorpos monoclonais também são amplamente usados na purificação de populações celulares selecionadas a partir de misturas complexas, para facilitar o estudo das propriedades e funções dessas células e para bloquear ou depletar moléculas secretadas e células em particular para o estudo de suas funções.

Tabela 5.3

Exemplos de Anticorpos Monoclonais em Uso Clínico

Alvo	Efeito	Doenças
Doenças Inflamatórias (Imunológicas)		
Integrinas α4	Bloqueio da saída de células imunes para o intestino e sistema nervoso central	Doença de Crohn, esclerose múltipla
CD20	Depleção de células B	Linfomas de células B, artrite reumatoide, esclerose múltipla, outras doenças autoimunes
IgE	Bloqueio de função da IgE	Alergia relacionada à asma
TNF	Bloqueio da inflamação	Artrite reumatoide, doença de Crohn, psoríase
Outras Doenças		
C5	Bloqueio da lise mediada pelo complemento	Hemoglobinúria paroxística noturna, síndrome hemolítico-urêmica atípica
Glicoproteína IIb/IIIa	Inibição da agregação plaquetária	Doença cardiovascular
Ligante de RANK	Bloqueio de sinalização de RANK	Osteoporose pós-menopausa, metástases ósseas de tumores sólidos
Proteína F do VSR	Bloqueio da entrada viral	Infecção pelo vírus sincicial respiratório
Câncer (Tabela 18.1, Capítulo 18)		

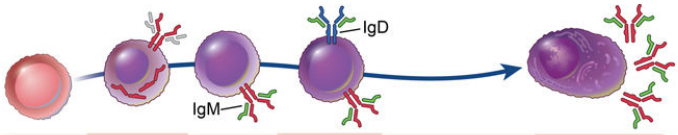
RANK, receptor ativador do fator nuclear κB; *VSR*, vírus sincicial respiratório; *TNF*, fator de necrose tumoral. Anticorpos adicionais anticitocinas em uso clínico são listados na Tabela 19.5, Capítulo 19.

Uma das limitações dos anticorpos monoclonais para terapia é serem mais facilmente produzidos pela imunização de camundongos, porém pacientes tratados com anticorpos murinos produzirão anticorpos contra a Ig de camundongo, chamados anticorpos humanos anticamundongo (HAMA, do inglês, *human antimouse antibody*). Esses anticorpos anti-Ig bloqueiam a função ou aumentam a eliminação do anticorpo monoclonal injetado e também podem causar a doença do soro (Capítulo 19). Técnicas de engenharia genética têm sido usadas para minimizar a geração de HAMAs e, assim, expandir a utilidade dos anticorpos monoclonais. Os DNAs complementares (cDNAs) que codificam as cadeias polipeptídicas de um anticorpo monoclonal podem ser isolados de um hibridoma, e esses genes podem ser manipulados *in vitro*. Como discutido anteriormente, somente pequenas porções da molécula do anticorpo são responsáveis pela ligação ao antígeno; o restante da molécula de anticorpo pode ser imaginado como um alicerce. Essa organização estrutural permite que segmentos de DNA codificadores de sítios de ligação ao antígeno de um anticorpo monoclonal murino possam ser inseridos no cDNA que codifica uma proteína de mieloma humano, criando um gene híbrido. Quando expressa, a proteína híbrida resultante, a qual retém a especificidade antigênica do anticorpo monoclonal murino original, mas tem a estrutura central de uma Ig humana, é referida como um anticorpo humanizado. Anticorpos monoclonais humanos completos também são utilizados na clínica. Esses anticorpos são derivados de métodos de expressão em fagos ou em camundongos com células B expressando transgenes de Ig humanos. Anticorpos humanizados são muito menos propensos do que anticorpos monoclonais de camundongo de serem reconhecidos como estranhos em seres humanos e de induzir respostas antianticorpo. Entretanto, uma proporção de indivíduos que recebe anticorpos monoclonais completamente humanizados para terapia desenvolve antianticorpos bloqueadores, por razões desconhecidas.

Síntese, Montagem e Expressão das Moléculas de Imunoglobulina

As cadeias pesadas e leves da imunoglobulina, assim como a maioria das proteínas secretadas e de membrana, são sintetizadas em ribossomos ligados à membrana no retículo endoplasmático rugoso. A proteína é translocada para o retículo endoplasmático, e as cadeias pesadas da Ig são *N*-glicosiladas durante o processo de translocação. O dobramento apropriado das cadeias pesadas da Ig e sua montagem com as cadeias leves são reguladas por proteínas residentes no retículo endoplasmático chamadas de chaperonas. Essas proteínas, as quais incluem a calnexina e uma molécula chamada proteína de ligação (BiP, do inglês *binding protein*), se ligam a polipeptídeos de Ig recém-sintetizados e garantem que eles sejam retidos ou marcados para degradação, a menos que sejam dobrados apropriadamente e montados como moléculas de Ig completas. A associação covalente das cadeias pesadas e leves é estabilizada pela formação de pontes dissulfeto e também ocorre no retículo endoplasmático durante o processo de montagem. Após essa montagem, as moléculas de Ig são liberadas das chaperonas, transportadas para a cisterna do complexo de Golgi, onde seus carboidratos são modificados e, então, direcionadas para a membrana plasmática em vesículas. Anticorpos em sua forma de membrana são ancorados na membrana plasmática, enquanto a forma secretada é transportada para fora da célula.

A maturação das células B a partir dos progenitores da medula óssea é acompanhada por alterações específicas na expressão do gene de Ig, resultando na produção de moléculas de Ig em diferentes formas (Fig. 5.10). A célula mais inicial na linhagem do linfócito B que produz polipeptídeos de Ig, chamada célula pré-B, sintetiza a forma de membrana da cadeia pesada μ. Essas cadeias μ se associam a proteínas chamadas cadeias leves substitutas, para formar o receptor da célula pré-B, e uma pequena proporção do receptor da célula pré-B sintetizado é expressa na superfície celular. Células B imaturas e maduras produzem cadeias leves κ ou λ, as quais se associam às proteínas μ para formar moléculas de IgM. As células B maduras expressam formas membranares de IgM e IgD (cadeias pesadas μ e δ associadas a cadeias leves κ ou λ). Esses receptores Ig de membrana funcionam como receptores de superfície celular que reconhecem antígenos e iniciam o processo de ativação da célula B. O receptor da célula pré-B e o receptor antigênico da célula B estão associados não covalentemente a outras duas proteínas de membrana, Igα e Igβ, as quais possuem funções de sinalização e são essenciais para a expressão de IgM e IgD na superfície. Discutiremos os eventos moleculares e celulares na maturação da célula B subjacentes a essas alterações na expressão dos anticorpos no Capítulo 8.



Estágio da maturação	Célula-tronco	Célula pré-B	Célula B imatura	Célula B madura	Célula B ativada	Célula secretora de anticorpo
Padrão da produção de imunoglobulina	Nenhum	Cadeia pesada μ citoplasmática e receptor pré-B	IgM de membrana	IgM, IgD de membrana	Baixa taxa de secreção de Ig; troca de isotipo de cadeia pesada; maturação de afinidade	Alta taxa de secreção de IgM, IgG, IgA ou IgE; Ig de membrana reduzida

FIGURA 5.10 Expressão de Ig durante a maturação do linfócito B.
Estágios da maturação do linfócito B são mostrados com as alterações associadas na produção das cadeias pesadas e leves de Ig. As cadeias pesadas de IgM são mostradas em vermelho, as cadeias pesadas de IgD em azul e as cadeias leves em verde. Os eventos moleculares que acompanham essas alterações são discutidos nos Capítulos 8 e 12.

Quando linfócitos B maduros são ativados pelos antígenos e outros estímulos, as células se diferenciam em plasmócitos secretores de anticorpos. Esse processo é também acompanhado por alterações no padrão de produção da Ig. Uma dessas mudanças é a produção aumentada da forma secretada de Ig em comparação à forma de membrana. Essa alteração ocorre no nível de processamento

pós-transcricional. A segunda mudança é a expressão de isotipos de cadeia pesada diferentes de IgM e IgD, por um processo chamado troca de isotipo (ou classe) de cadeia pesada. Uma terceira mudança envolve a introdução de novas substituições de aminoácidos nos domínios variáveis de cadeias pesadas e leves para criar anticorpos de maior afinidade, resultando em uma alteração nos anticorpos chamada maturação da afinidade. Mudanças na expressão do anticorpo que ocorrem após a ativação da célula B serão discutidas posteriormente neste capítulo e em mais detalhes no Capítulo 12.

Meia-vida dos Anticorpos

A meia-vida dos anticorpos circulantes é uma medida de quanto tempo esses anticorpos permanecem no sangue após a secreção pelas células B (ou após a injeção, como no caso de um anticorpo administrado). A meia-vida é o tempo médio antes que o número de moléculas de anticorpo seja reduzido à metade. Diferentes isotipos de anticorpo têm meias-vidas muito diferentes na circulação. A IgE tem uma meia-vida bastante curta, de aproximadamente 2 dias na circulação (embora a IgE ligada à célula associada ao seu receptor de alta afinidade no mastócito tenha meia-vida bastante longa; Capítulo 20). A IgA circulante tem meia-vida de cerca de 3 dias (embora a maior parte da IgA seja produzida em sítios de mucosa e seja secretada diretamente no lumen do intestino ou da via aérea), e a IgM circulante tem meia-vida de aproximadamente 4 dias. Em contrapartida, as moléculas de IgG circulantes têm meia-vida de cerca de 21 a 28 dias.

A longa meia-vida da IgG é atribuída à sua capacidade em se ligar a um receptor Fc específico chamado **receptor Fc neonatal** (FcRn), o qual também está envolvido no transporte da IgG da circulação materna através da barreira placentária. O FcRn se assemelha estruturalmente às moléculas de MHC de classe I (descritas no Capítulo 6), e, na placenta transporta moléculas de IgG do sangue materno, através das células, até a circulação fetal. Em vertebrados adultos, o FcRn é encontrado na superfície das células endoteliais, macrófagos e outros tipos celulares e se liga à IgG micropinocitada nos endossomos acídicos. O FcRn não tem como alvo a IgG ligada nos lisossomos (o destino comum de muitas moléculas ingeridas), mas a recicla para a superfície celular e a libera em pH neutro, retornando a IgG para a circulação (Fig. 5.11). Esse sequestro intracelular da IgG para longe dos lisossomos previne sua degradação rápida, como ocorre com a maioria das outras proteínas plasmáticas, incluindo outros isotipos de anticorpo, e como resultado, esse isotipo tem uma meia-vida relativamente longa. Há algumas diferenças nas meias-vidas dos quatro isotipos de IgG humanas. A IgG3 tem meia-vida relativamente curta, porque se liga fracamente ao FcRn. A IgG1 e a IgG2 são as de meia-vida mais longa e mais eficientes em termos de funções efetoras, como discutiremos no Capítulo 13.

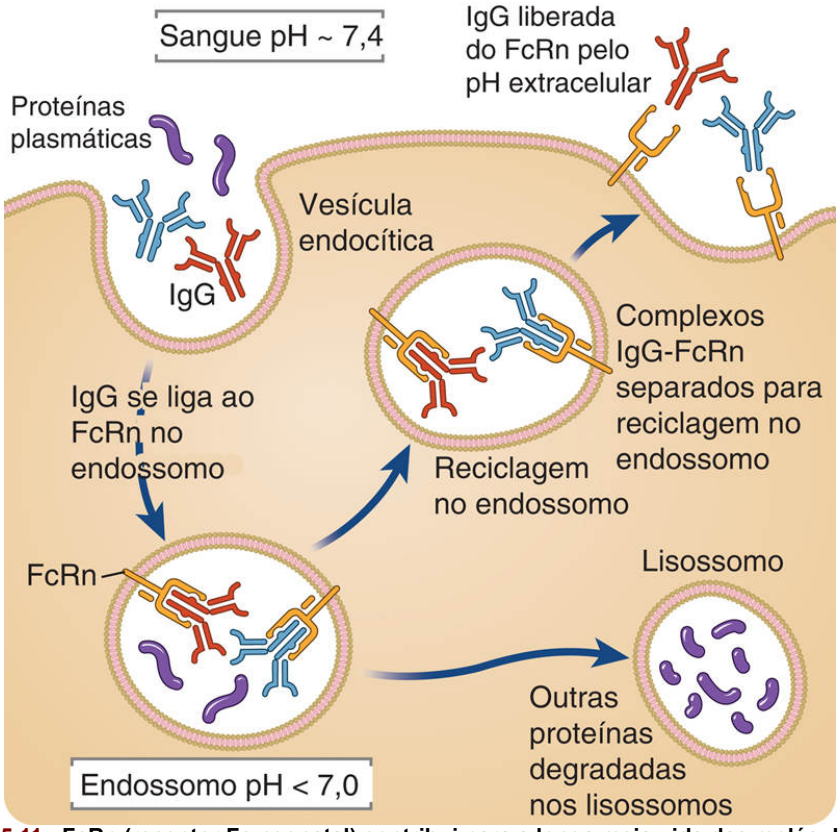


FIGURA 5.11 FcRn (receptor Fc neonatal) contribui para a longa meia-vida das moléculas de IgG.
As moléculas de IgG micropinocitadas nas células endoteliais se ligam ao FcRn, um receptor ligante de IgG no ambiente acídico dos endossomos. Nas células endoteliais, o FcRn direciona as moléculas de IgG para longe da degradação lisossomal e as libera quando as vesículas se fundem com a superfície celular, expondo os complexos FcRn-IgG ao pH neutro.

A longa meia-vida da IgG tem sido usada para fornecer uma vantagem terapêutica para certas proteínas injetadas, pela produção de proteínas de fusão contendo a parte biologicamente ativa da proteína e a porção Fc da IgG. A porção Fc permite que as proteínas se liguem ao FcRn e assim prolongue as meias-vidas das proteínas injetadas. Uma proteína de fusão terapeuticamente útil é a TNFR-Ig, a qual consiste em um domínio extracelular do receptor de TNF tipo II (TNFR) fusionado com um domínio Fc da IgG. Essa proteína de fusão bloqueia as ações inflamatórias do TNF, semelhante a um anticorpo anti-TNF, sendo usada no tratamento de certos distúrbios autoimunes tais como artrite reumatoide, enteropatia inflamatória e psoríase (Fig. 5.12). Outra proteína de fusão utilizada terapeuticamente é a CTLA4-Ig, que contém o domínio extracelular do receptor CTLA-4, o qual se liga e bloqueia os coestimuladores B7, fusionado à porção Fc da IgG humana; ela também tem sido útil no tratamento da artrite reumatoide e na rejeição ao transplante de rim.

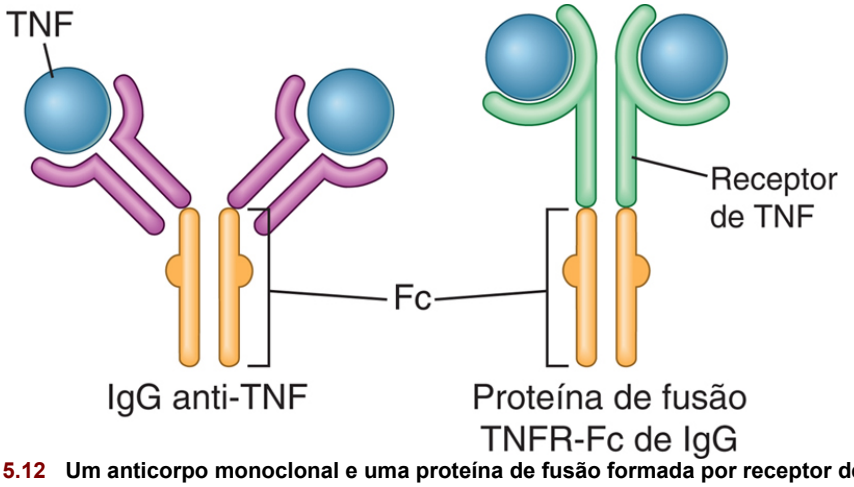


FIGURA 5.12 Um anticorpo monoclonal e uma proteína de fusão formada por receptor de citocina-Fc de IgG, ambos usados terapeuticamente.
Um anticorpo específico para a citocina fator de necrose tumoral (TNF) (esquerda) pode se ligar e bloquear a atividade da citocina. O domínio extracelular do receptor de TNF (direita) é também um antagonista da citocina e a ligação desse domínio solúvel do receptor a um domínio Fc de IgG (por tecnologia de DNA recombinante) aumenta a meia-vida do receptor na circulação.

Ligação dos Anticorpos aos Antígenos

Todas as funções dos anticorpos são dependentes de sua capacidade de se ligar especificamente aos antígenos. Consideraremos agora a natureza dos antígenos e como eles são reconhecidos pelos anticorpos.

Características dos Antígenos Biológicos

Um antígeno é qualquer substância que pode ser especificamente ligada por uma molécula de anticorpo ou receptor de célula T. Os anticorpos podem reconhecer como antígenos praticamente todos os tipos de moléculas biológicas, incluindo metabólitos intermediários simples, açúcares, lipídeos, autacoides e hormônios, bem como macromoléculas tais como carboidratos complexos, fosfolipídeos, ácidos nucleicos e proteínas. Isso contrasta com as células T, as quais reconhecem principalmente peptídeos (Capítulo 6).

Nem todos os antígenos reconhecidos por linfócitos específicos ou por anticorpos secretados são capazes de ativar os linfócitos. Moléculas que estimulam as respostas imunes são chamadas de **imunógenos**. Macromoléculas são efetivas para estimular os linfócitos B a iniciarem respostas imunes humorais porque a ativação da célula B necessita que múltiplos receptores antigênicos sejam unidos (ligação cruzada). Agentes químicos pequenos, tais como dinitrofenol, podem se ligar aos anticorpos e são, portanto, antígenos, mas não podem ativar as células B por si só (i.e., não são imunogênicos). Para gerar anticorpos específicos para esses pequenos agentes químicos, os imunologistas comumente ligam múltiplas cópias dessas pequenas moléculas a uma proteína ou polissacarídeo antes da imunização. Nesses casos, o pequeno agente químico é chamado **hapteno** e a molécula maior à qual ele está conjugado é denominada **carreador**. O complexo hapteno-carreador, ao contrário do hapteno livre, pode agir como um imunógeno (Capítulo 12).

Macromoléculas, tais como proteínas, polissacarídeos e ácidos nucleicos, são normalmente muito maiores do que a região de ligação ao antígeno de uma molécula de anticorpo (Fig. 5.6). Dessa maneira, qualquer anticorpo se liga somente a uma porção da macromolécula, a qual é chamada **determinante** ou **epítopo**. Essas duas palavras são sinônimos usados indistintamente ao longo deste livro. Macromoléculas tipicamente contêm múltiplos determinantes, alguns dos quais podem ser repetidos e cada um deles, por definição, pode ser ligado por um anticorpo. A presença de múltiplos determinantes idênticos em um antígeno é referida como **polivalência** ou **multivalência**. A maioria das proteínas globulares não contém múltiplos determinantes idênticos e não é individualmente polivalente, porém muitas proteínas idênticas podem ser expostas em uma matriz polivalente nas superfícies celulares, incluindo a superfície dos microrganismos. No caso dos polissacarídeos e ácidos nucleicos, muitos epítopos idênticos podem estar espaçados de maneira regular e essas moléculas são ditas polivalentes. Matrizes polivalentes de antígenos carboidratos podem ser expostas nas superfícies celulares. Os antígenos polivalentes podem induzir o agrupamento de receptores da célula B e assim iniciar o processo de ativação da célula B (Capítulo 12).

A organização espacial de diferentes epítopos em uma única molécula proteica pode influenciar a ligação dos anticorpos de várias maneiras. Quando os determinantes estão bem separados, duas ou mais moléculas de anticorpo podem se ligar ao mesmo antígeno proteico sem que uma influencie a outra; tais determinantes são ditos não sobrepostos. Quando dois determinantes estão próximos um ao outro, a ligação do anticorpo ao primeiro determinante pode causar uma interferência estérica na ligação do anticorpo ao segundo; tais determinantes são ditos sobrepostos. Em raros casos, a ligação de um anticorpo pode causar uma alteração conformacional na estrutura do antígeno, influenciando positiva ou negativamente a ligação de um segundo anticorpo a outro sítio na proteína, por outros meios além do impedimento estérico. Tais interações são chamadas de efeitos aloestéricos.

Qualquer forma ou superfície disponível em uma molécula que possa ser reconhecida por um anticorpo constitui um determinante antigênico ou epítopo. Os determinantes antigênicos podem ser delineados em qualquer tipo de composto, incluindo, mas não restrito a, carboidratos, proteínas, lipídeos e ácidos nucleicos. No caso das proteínas, a formação de alguns epítopos depende somente da estrutura primária e a formação de outros determinantes reflete a estrutura terciária ou conformação (forma) (Fig. 5.13). Os epítopos formados por vários resíduos de aminoácidos adjacentes são chamados de epítopos lineares. O sítio de ligação ao antígeno de um anticorpo pode normalmente acomodar um

epítopo linear composto por cerca de seis aminoácidos. Se os epítopos lineares aparecem na superfície externa ou em uma região de conformação estendida na proteína dobrada nativa, eles podem ser acessíveis aos anticorpos. Em outros casos, os epítopos lineares podem estar inacessíveis na conformação nativa e aparecem somente quando a proteína é desnaturada. Em contraste, os epítopos conformacionais são formados por resíduos de aminoácidos que não estão em sequência, mas se tornam espacialmente justapostos na proteína dobrada. Anticorpos específicos para certos epítopos lineares e anticorpos específicos para epítopos conformacionais podem ser usados para determinar se uma proteína está desnaturada ou em sua conformação nativa, respectivamente. As proteínas podem estar sujeitas a modificações como glicosilação, fosforilação, ubiquitinação, acetilação e proteólise. Essas modificações, ao alterar a estrutura da proteína, podem produzir novos epítopos. Tais epítopos são chamados de epítopos neoantigênicos e também podem ser reconhecidos por anticorpos específicos.

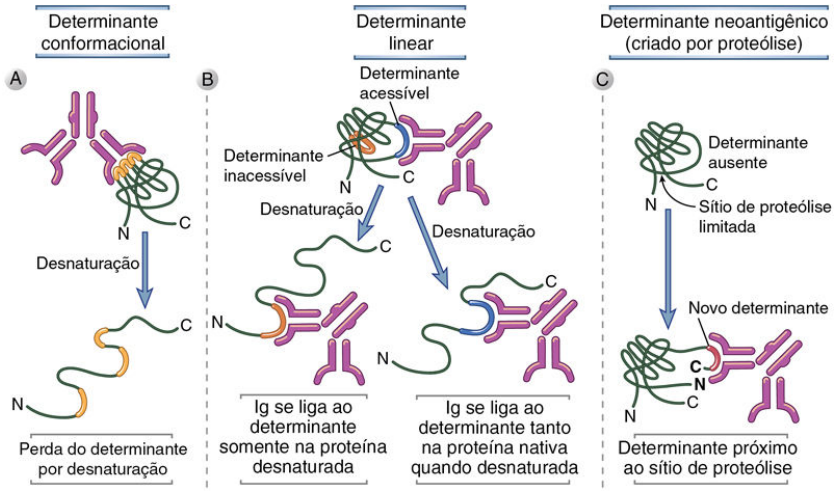


FIGURA 5.13 Natureza dos determinantes antigênicos.
Os determinantes antigênicos (mostrados em laranja, vermelho e azul) podem depender do dobramento da proteína (conformação) assim como de sua estrutura primária. Alguns determinantes são acessíveis nas proteínas nativas e são perdidos na desnaturação **(A)**, enquanto outros são expostos somente na proteína não dobrada **(B)**. Neodeterminantes surgem de modificações pós-síntese, tais como clivagem de ligação peptídica **(C)**.

Bases Estrutural e Química da Ligação Antigênica

Os sítios de ligação antigênica de muitos anticorpos são superfícies planares que podem acomodar epítopos conformacionais de macromoléculas, permitindo que os anticorpos se liguem a grandes macromoléculas (Fig. 5.6). Os seis CDRs, três da cadeia pesada e três da cadeia leve, podem se espalhar para formar uma grande superfície. Em um número de anticorpos específicos para pequenas moléculas, tais como monossacarídeos e drogas, o antígeno se liga a uma fenda gerada pela aposição próxima de CDRs dos domínios V_L e V_H.

O reconhecimento dos antígenos pelos anticorpos envolve ligação não covalente e reversível. Vários tipos de interações não covalentes podem contribuir para a ligação do anticorpo aos antígenos, incluindo forças eletrostáticas, pontes de hidrogênio, forças de van der Waals e interações hidrofóbicas. A importância relativa de cada uma delas depende das estruturas do sítio de ligação de um anticorpo individual e do determinante antigênico. A força de ligação entre um único sítio de combinação entre um anticorpo e um epítopo de um antígeno é chamada **afinidade** do anticorpo. A afinidade é normalmente representada por uma constante de dissociação (K_d), a qual indica quão fácil é a separação (dissociação) de um complexo antígeno-anticorpo em seus constituintes. Uma K_d menor indica uma interação de afinidade mais forte ou maior porque uma menor concentração do antígeno e do anticorpo é necessária para a formação do complexo. A K_d dos anticorpos produzidos em respostas imunes humorais típicas normalmente varia entre 10^{-7} a 10^{-11} M. O soro de um indivíduo imunizado conterá

uma mistura de anticorpos com diferentes afinidades pelo antígeno, dependendo primariamente das sequências de aminoácidos das CDRs.

Pelo fato de a região da dobradiça dos anticorpos lhes conferir flexibilidade, um único anticorpo pode se ligar a um único antígeno multivalente em mais de um sítio de ligação. Para a IgG ou IgE, essa ligação pode envolver, no máximo, dois sítios de ligação, um para cada Fab. Para a IgM pentamérica, entretanto, um único anticorpo pode se ligar a até 10 sítios diferentes (Fig. 5.14). Antígenos polivalentes terão mais de uma cópia de um determinante em particular. Embora a afinidade de qualquer sítio de ligação antigênica seja a mesma para cada epítopo de um antígeno polivalente, a força da ligação do anticorpo ao antígeno deve levar em conta a ligação de todos os sítios para todos os epítopos disponíveis. Essa força geral de ligação é chamada **avidez** e é muito maior do que a afinidade a qualquer sítio individual de ligação antigênica. Assim, uma molécula de IgM de baixa afinidade ainda pode se ligar firmemente a um antígeno polivalente porque muitas interações de baixa afinidade (até 10 por molécula de IgM) podem produzir uma interação de alta avidez.

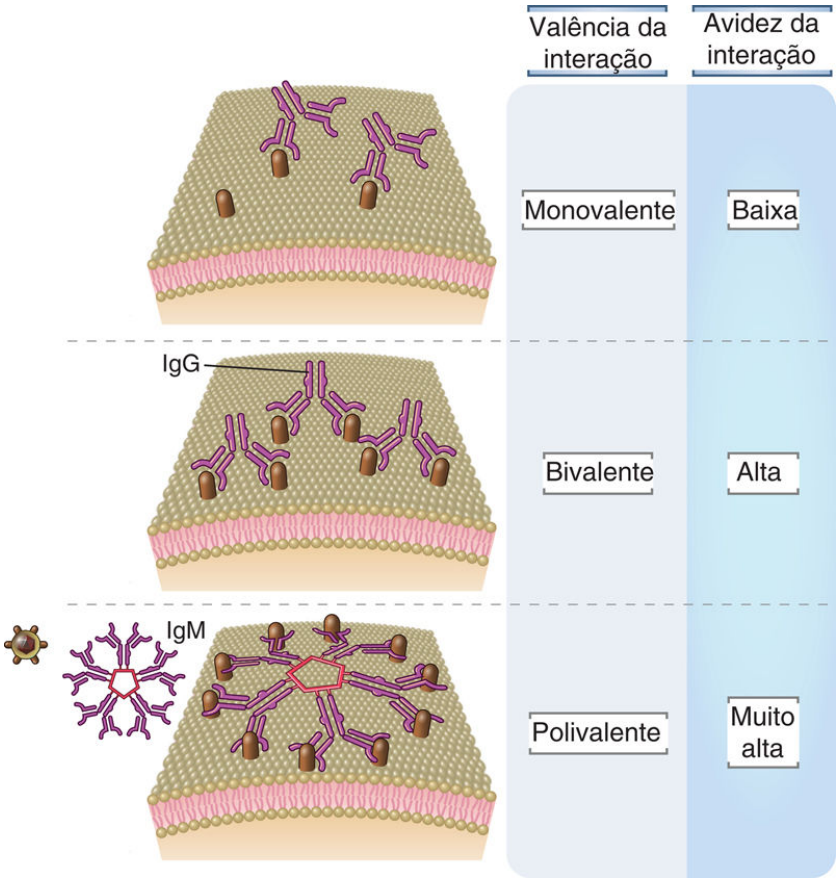


FIGURA 5.14 Valência e avidez das interações anticorpo-antígeno.
Antígenos monovalentes, ou epítopos com espaçamentos distantes nas superfícies celulares, interagirão com um único sítio de ligação de uma molécula de anticorpo. Embora a afinidade desta interação possa ser alta, a avidez total pode ser relativamente baixa. Quando determinantes repetidos em uma superfície celular estão próximos o suficiente, ambos os sítios de ligação ao antígeno de uma única molécula de IgG podem se ligar, levando a uma interação bivalente de avidez mais alta. A região de dobradiça da molécula de IgG acomoda a alteração na forma necessária para a ocupação simultânea de ambos os sítios de ligação. As moléculas de IgM têm 10 sítios idênticos de ligação ao antígeno que podem se ligar teoricamente a 10 determinantes repetidos simultaneamente na superfície celular, resultando em uma interação polivalente de alta avidez.

Antígenos polivalentes são importantes do ponto de vista da ativação da célula B, como discutido anteriormente. Interações polivalentes entre antígenos e anticorpos também têm significado biológico,

uma vez que muitas funções efetoras dos anticorpos são disparadas de maneira ótima quando duas ou mais moléculas de anticorpos são aproximadas pela ligação a um antígeno polivalente. Se um antígeno polivalente é misturado com um anticorpo específico em um tubo de ensaio, os dois interagem formando **imunocomplexos** (Fig. 5.15). Na concentração correta, denominada zona de equivalência, anticorpo e antígeno formam uma extensa malha de ligações cruzadas de moléculas ligadas de tal forma que a maioria ou todas as moléculas de antígeno e anticorpo estão complexadas em grandes massas. Os imunocomplexos podem ser dissociados em agregados menores, tanto pelo aumento da concentração do antígeno, de modo que as moléculas de antígeno livre deslocarão o antígeno ligado ao anticorpo (zona de excesso de antígeno), quanto pelo aumento da concentração do anticorpo, de modo que as moléculas de anticorpo livre deslocarão o anticorpo ligado aos determinantes antigênicos (zona de excesso de anticorpo). Se uma zona de equivalência é alcançada *in vivo*, grandes imunocomplexos podem se formar na circulação. Os imunocomplexos que são aprisionados ou formados nas paredes dos vasos sanguíneos podem iniciar uma reação inflamatória, resultando em doenças de imunocomplexos (Capítulo 19).

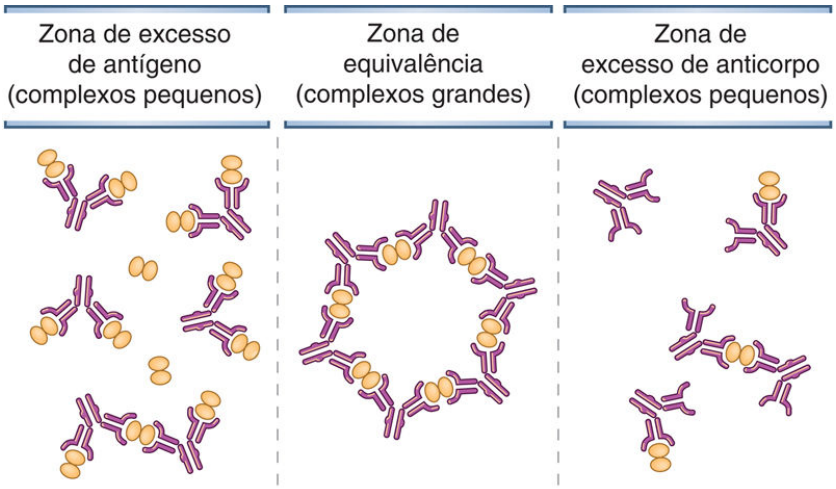


FIGURA 5.15 Complexos antígeno-anticorpo.
Os tamanhos dos complexos antígeno-anticorpo (imunes) são uma função das concentrações relativas do antígeno e do anticorpo. Complexos grandes são formados em concentrações de antígenos multivalentes e anticorpos na chamada zona de equivalência; os complexos são menores quando há excesso relativo de antígeno ou de anticorpo.

Relações Estrutura-função nas Moléculas de Anticorpos

Muitas características estruturais dos anticorpos são críticas para sua capacidade de reconhecer antígenos e para suas funções efetoras. Na seção a seguir, resumiremos como a estrutura dos anticorpos contribui para suas funções.

Características Relacionadas ao Reconhecimento do Antígeno

A capacidade dos anticorpos em reconhecer especificamente uma grande variedade de antígenos com afinidades variadas reflete as propriedades das regiões V.

Especificidade

Os anticorpos podem ser notavelmente específicos para os antígenos, distinguindo entre pequenas diferenças em sua estrutura química. A refinada especificidade dos anticorpos se aplica ao reconhecimento de todas as classes de moléculas. Por exemplo, os anticorpos podem distinguir dois determinantes proteicos lineares que diferem somente quanto a uma única substituição de aminoácidos conservados, que tem pouco efeito na estrutura secundária. Esse alto grau de especificidade é necessário para que anticorpos gerados em resposta aos antígenos de um microrganismo normalmente não reajam com as moléculas próprias estruturalmente semelhantes ou com os antígenos de outros microrganismos. Entretanto, alguns anticorpos produzidos contra um antígeno podem se ligar a um antígeno diferente, mas estruturalmente relacionado. Isso é conhecido como **reação cruzada**. Os anticorpos que são produzidos em resposta a um antígeno microbiano algumas vezes reagem cruzadamente com antígenos próprios, e isso pode ser a base de certas doenças imunológicas (Capítulo 19).

Diversidade

Como discutimos anteriormente neste capítulo, um indivíduo é capaz de produzir um número tremendo de anticorpos estruturalmente distintos, talvez da ordem de milhões, cada um com uma especificidade distinta. A capacidade dos anticorpos, em qualquer indivíduo, de se ligar especificamente a um grande número de antígenos diferentes é um reflexo da **diversidade** de anticorpos, e a coleção total de anticorpos com diferentes especificidades representa o **repertório** de anticorpos. Os mecanismos genéticos que geram um repertório tão vasto de anticorpos são ativos somente nos linfócitos B (e os mesmos mecanismos para geração da diversidade do TCR são ativos nas células T). Essa diversidade é gerada pela recombinação randômica de um conjunto limitado de sequências de DNA da linhagem germinativa herdadas formando genes funcionais que codificam as regiões V das cadeias pesadas e leves, assim como pela adição de sequências de nucleotídeos durante o processo de recombinação. Discutiremos esses mecanismos em detalhes no Capítulo 8. As milhões de variações resultantes na estrutura estão concentradas nas regiões hipervariáveis de ligação antigênica tanto na cadeia pesada quanto na cadeia leve e, assim, determinam a especificidade aos antígenos.

Maturação de Afinidade

A capacidade dos anticorpos de neutralizar toxinas e microrganismos infecciosos é dependente da firme ligação dos anticorpos. Como discutimos, a firme ligação é alcançada pelas interações de alta afinidade e alta avidez. Um mecanismo para a geração de anticorpos de alta afinidade envolve alterações sutis na estrutura das regiões V dos anticorpos durante as respostas imunes humorais dependentes de célula T aos antígenos proteicos. Essas alterações ocorrem por um processo de mutação somática em linfócitos B estimulados pelo antígeno que gera novas estruturas no domínio V, algumas das quais se ligam ao antígeno com maior afinidade do que os domínios V originais (Fig. 5.16). Aquelas células B produtoras de anticorpos de maior afinidade se ligam preferencialmente ao antígeno e, como resultado da seleção, se tornam células B dominantes a cada exposição subsequente ao antígeno. Esse processo, chamado **maturação de afinidade**, resulta em um aumento na afinidade média de ligação dos anticorpos a um antígeno à medida que a resposta imune evolui. Dessa maneira, um anticorpo produzido durante uma

resposta imune primária a um antígeno proteico frequentemente tem uma K_d na faixa de 10^{-7} a 10^{-9} M; nas respostas secundárias, a afinidade aumenta, com uma K_d de 10^{-11} M ou até menor. Discutiremos os mecanismos da maturação da afinidade no Capítulo 12.

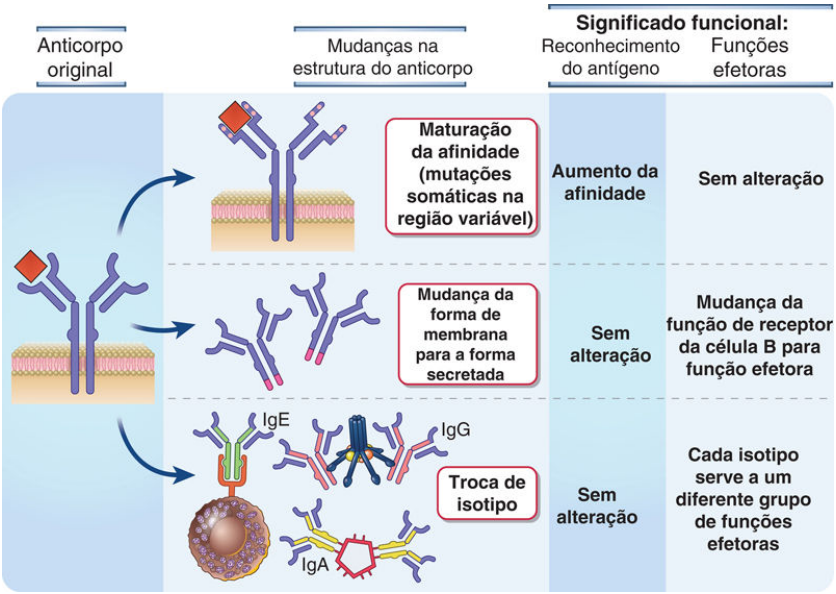


FIGURA 5.16 Alterações na estrutura do anticorpo durante as respostas imunes humorais. A ilustração descreve as mudanças na estrutura dos anticorpos que podem ser produzidas pela progênie de células B ativadas (um clone) e as alterações na função. Durante a maturação da afinidade, mutações na região V (indicada por pontos amarelos) levam a alterações na especificidade fina sem mudanças nas funções efetoras dependentes da região C. Células B ativadas podem trocar a produção de anticorpos basicamente ligados à membrana contendo regiões transmembranares e citoplasmáticas para anticorpos secretados. Os anticorpos secretados podem ou não apresentar mutações nos genes V (i.e., a secreção dos anticorpos ocorre antes e após a maturação da afinidade). Na troca de isotipo, as regiões C mudam (indicado pela mudança da cor roxa para verde, amarelo ou rosa), sem alterações na região V de ligação ao antígeno. A troca de isotipo é observada em anticorpos ligados à membrana e nos secretados. Discutiremos as bases moleculares para essas alterações no Capítulo 12.

Características Relacionadas às Funções Efetoras

Muitas das funções efetoras dos anticorpos são mediadas pelas porções Fc das moléculas, e os isotipos de Ig que diferem nessas regiões Fc realizam funções distintas. Mencionamos previamente que as funções efetoras dos anticorpos requerem a ligação das regiões C da cadeia pesada, as quais compõem as porções Fc, a outras células e proteínas plasmáticas. Por exemplo, a IgG recobre microrganismos e os marca para a fagocitose pelos neutrófilos e macrófagos. Isso ocorre porque a molécula de IgG é capaz de se ligar simultaneamente ao microrganismo, através da sua região Fab, e aos receptores Fc específicos para a cadeia pesada da IgG expressos nos neutrófilos e macrófagos, através da sua região Fc. Em contrapartida, a IgE se liga aos mastócitos e dispara sua desgranulação porque essas células expressam receptores Fc específicos para a IgE. Outro mecanismo efetor da imunidade humoral dependente de Fc é a ativação da via clássica do sistema complemento. O sistema gera mediadores inflamatórios e promove a fagocitose e lise microbiana, sendo iniciado pela ligação de uma proteína do complemento chamada C1q às porções Fc da IgG ou IgM complexadas ao antígeno. O receptor Fc e os sítios de ligação do complemento dos anticorpos são encontrados dentro dos domínios C da cadeia pesada de diferentes isotipos (Fig. 5.1). Discutiremos a estrutura e as funções dos receptores Fc e proteínas do complemento no Capítulo 13.

As funções efetoras dos anticorpos são iniciadas somente pelas moléculas de Ig que se ligaram aos antígenos e não por Ig livres. A razão para somente anticorpos com antígenos ligados ativarem

mecanismos efetores é que duas ou mais porções Fc de anticorpos adjacentes são necessárias para ligar e disparar vários sistemas efetores, tais como proteínas do complemento e receptores Fc dos fagócitos (Capítulo 13). Esse requerimento para que moléculas de anticorpos estejam adjacentes garante que as funções efetoras sejam direcionadas especificamente para a eliminação dos antígenos que são reconhecidos pelo anticorpo e que anticorpos livres circulantes não disparem respostas efetoras de maneira inapropriada ou perigosa.

Mudanças nos isotipos dos anticorpos durante as respostas imunes humorais influenciam como as respostas trabalham para erradicar os antígenos. Após a estimulação por um antígeno, um único clone de células B pode produzir anticorpos de diferentes isotipos que, todavia, possuem domínios V idênticos e, portanto, especificidade antigênica idêntica. As células B *naive* produzem simultaneamente IgM e IgD, que atuam como receptores de membrana para os antígenos. Quando essas células B são ativadas por antígenos estranhos, tipicamente de origem microbiana, podem passar por um processo chamado **troca de isotipo (ou classe)** no qual o tipo de região C_H e, consequentemente, o isotipo do anticorpo produzido pela célula B são alterados, mas as regiões V e a especificidade não mudam (Fig. 5.16). Como resultado da troca de isotipo, diferentes progênies da célula B *naive* original expressando IgM e IgD podem produzir isotipos e subtipos que são mais aptos a eliminar o antígeno. Por exemplo, a resposta do anticorpo a muitas bactérias e vírus no sangue é dominada por anticorpos IgG, mas os mesmos microrganismos em tecidos de mucosa (intestino e vias aéreas) elicitam muito mais IgA, a qual é eficientemente secretada no lúmen desses órgãos. A troca para o isotipo IgG também prolonga a efetividade das respostas imunes humorais em decorrência da meia-vida dos anticorpos IgG. Discutiremos os mecanismos e significados funcionais da troca de isotipo no Capítulo 12.

As regiões C da cadeia pesada dos anticorpos também determinam a distribuição tecidual das moléculas de anticorpo. Como mencionamos anteriormente, após serem ativadas, as células B perdem gradualmente a expressão de anticorpos ligados à membrana e os expressam mais como uma proteína secretada (Fig. 5.16). A IgA pode ser eficientemente secretada através do epitélio de mucosa e é a principal classe de anticorpo nas secreções de mucosa e no leite (Capítulo 14). Os neonatos são protegidos das infecções pelos anticorpos IgG que eles adquirem de suas mães através da placenta durante a gestação. Essa transferência de IgG materna é mediada pelo FcRn, o qual descrevemos anteriormente como sendo o receptor responsável pela longa meia-vida dos anticorpos IgG.

Resumo

- Anticorpos, ou imunoglobulinas, são uma família de glicoproteínas estruturalmente relacionadas produzidas na forma ligada à membrana ou secretada pelos linfócitos B.
- Anticorpos ligados à membrana servem como receptores que medeiam a ativação das células B disparada pelo antígeno.
- Anticorpos secretados atuam como mediadores da imunidade humoral específica acoplando vários mecanismos efetores que servem para eliminar os antígenos ligados.
- As regiões de ligação ao antígeno das moléculas do anticorpo são altamente variáveis, e qualquer indivíduo tem o potencial de produzir milhões de anticorpos diferentes, cada qual com especificidade antigênica distinta.
- Todos os anticorpos têm uma estrutura central simétrica e comum de duas cadeias pesadas idênticas ligadas covalentemente e duas cadeias leves idênticas, cada qual ligada a uma das cadeias pesadas. Cada cadeia consiste em dois ou mais domínios Ig independentemente dobrados de cerca de 110 aminoácidos contendo sequências conservadas e pontes dissulfeto intracadeias.
- Os domínios *N*-terminais das cadeias pesadas e leves formam as regiões V das moléculas de anticorpo, as quais diferem entre anticorpos de diferentes especificidades. Cada uma das regiões V das cadeias pesadas e leves contêm três regiões hipervariáveis separadas por cerca de 10 aminoácidos que são espacialmente montadas para formar o sítio de combinação ao antígeno da molécula de anticorpo.
- Os anticorpos são classificados em diferentes isotipos e subtipos com base nas diferenças nas regiões C da cadeia pesada, a qual consiste em três ou quatro domínios C de Ig, e estas classes e subclasses possuem diferentes propriedades funcionais. As classes de anticorpos são chamadas IgM, IgD, IgG, IgE e IgA. Ambas as cadeias leves de uma única molécula de Ig são do mesmo isotipo de cadeia leve, κ ou λ, as quais diferem em seus domínios C únicos.
- A maioria das funções efetoras dos anticorpos é mediada pelas regiões C das cadeias pesadas, mas essas funções são disparadas pela ligação dos antígenos ao sítio de combinação na região V.
- Os anticorpos monoclonais são produzidos a partir de um único clone de células B e reconhecem um único determinante antigênico. Anticorpos monoclonais podem ser gerados em laboratório e são amplamente usados na pesquisa, diagnóstico e terapia.
- Os antígenos são substâncias que se ligam especificamente a anticorpos ou a receptores antigênicos dos linfócitos T. Os antígenos que se ligam aos anticorpos incluem uma grande variedade de moléculas biológicas incluindo açúcares, lipídeos, carboidratos, proteínas e ácidos nucleicos. Isso contrasta à maioria dos receptores antigênicos da célula T, os quais reconhecem somente antígenos peptídicos.
- Antígenos macromoleculares contêm múltiplos epítopos, ou determinantes, cada um dos quais pode ser reconhecido por um anticorpo. Os epítopos lineares dos antígenos proteicos consistem em uma sequência de aminoácidos adjacentes, e determinantes conformacionais são formados pela dobra de uma cadeia polipeptídica.
- A afinidade da interação entre o sítio de combinação de uma única molécula de anticorpo e um único epítopo é geralmente representada pela K_d calculada a partir de dados de ligação.

  Antígenos polivalentes contêm múltiplos epítopos idênticos aos quais moléculas de anticorpos idênticos podem se ligar. Os anticorpos podem se ligar simultaneamente a dois, ou no caso da IgM, a até 10 epítopos idênticos, levando ao aumento da avidez da interação anticorpo-antígeno.
- As concentrações relativas dos antígenos e anticorpos polivalentes podem favorecer a formação de imunocomplexos que podem se depositar nos tecidos e causar dano.
- A ligação do anticorpo ao antígeno pode ser altamente específica, distinguindo pequenas diferenças nas estruturas químicas, embora reações cruzadas também possam ocorrer, quando dois ou mais antígenos podem se ligar ao mesmo anticorpo.
- Várias mudanças na estrutura dos anticorpos, feitas por um clone de células B, podem ocorrer no curso de uma resposta imune. As células B inicialmente produzem somente Ig ligada à membrana, mas em células B ativadas e plasmócitos, é secretada uma Ig com a mesma

especificidade de ligação ao antígeno do receptor Ig original ligado à membrana. Mudanças no uso dos segmentos gênicos da região C sem alterações nas regiões V são a base da troca de isotipo, a qual leva a mudanças na função efetora sem uma alteração na especificidade. Mutações pontuais nas regiões V de um anticorpo específico para um antígeno levam ao aumento da afinidade para aquele antígeno (maturação de afinidade).

Referências Sugeridas

Estrutura e Função dos Anticorpos

Burton DR, Hangartner L. Broadly neutralizing antibodies to HIV and their role in vaccine design. *Annu Rev Immunol*. 2016;34:635–659.

Corti D, Lanzavecchia A. Broadly neutralizing antiviral antibodies. *Annu Rev Immunol*. 2013;31:705–742.

Danilova N, Amemiya CT. Going adaptive: the saga of antibodies. *Ann N Y Acad Sci*. 2009;1168:130–155.

Fagarasan S. Evolution, development, mechanism and function of IgA in the gut. *Curr Opin Immunol*. 2008;20:170–177.

Law M, Hangartner L. Antibodies against viruses: passive and active immunization. *Curr Opin Immunol*. 2008;20:486–492.

Aplicações Terapêuticas dos Anticorpos

Chan AC, Carter PJ. Therapeutic antibodies for autoimmunity and inflammation. *Nat Rev Immunol*. 2010;10:301–316.

Kohler G, Milstein C. Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. *Nature*. 1975;256:495–497.

Lonberg N. Fully human antibodies from transgenic mouse and phage display platforms. *Curr Opin Immunol*. 2008;20:450–459.

Martin F. Antibodies as leading tools to unlock the therapeutic potential in human disease. *Immunol Rev*. 2016;270:5–7.

Weiner LM, Surana R, Wang S. Monoclonal antibodies: versatile platforms for cancer immunotherapy. *Nat Rev Immunol*. 2010;10:317–327.

Wilson PC, Andrews SF. Tools to therapeutically harness the human antibody response. *Nat Rev Immunol*. 2012;12:709–719.

CAPÍTULO 6

Apresentação de Antígeno para Linfócitos T e as Funções das Moléculas do Complexo Principal de Histocompatibilidade

PROPRIEDADES DOS ANTÍGENOS RECONHECIDOS PELOS LINFÓCITOS T

CAPTURA DO ANTÍGENO E AS FUNÇÕES DAS CÉLULAS APRESENTADORAS DE ANTÍGENO

- Propriedades Gerais das Células Apresentadoras de Antígeno
- Papel das Células Dendríticas na Captura e Exibição do Antígeno
- Funções de Outras Células Apresentadoras de Antígeno

O COMPLEXO PRINCIPAL DE HISTOCOMPATIBILIDADE

- Descoberta do Complexo Principal de Histocompatibilidade
- Genes do MHC
- Estrutura das Moléculas do MHC
- Ligação de Peptídeos a Moléculas do MHC

PROCESSAMENTO DE ANTÍGENOS PROTEICOS

- A Via do MHC de Classe I para Processamento e Apresentação de Proteínas Citosólicas
- A Via do MHC de Classe II para Apresentação de Proteínas Degradadas em Lisossomos
- Apresentação Cruzada

Significância Fisiológica da Apresentação do Antígeno Associado ao MHC

APRESENTAÇÃO DE ANTÍGENOS NÃO PROTEICOS PARA CÉLULAS T

RESUMO

As principais funções dos linfócitos T são erradicar infecções por microrganismos intracelulares e ativar outras células, como macrófagos e linfócitos B. A ativação e as funções das células T têm várias características que refletem as propriedades especiais deste tipo celular.

Os antígenos são capturados a partir de seu sítio de entrada e concentrados nos órgãos linfoides periféricos (secundários), ao longo dos quais as células T* naive *circulam constantemente. Microrganismos e outros antígenos mais frequentemente entram no corpo através das superfícies revestidas por epitélio, na interface com o ambiente externo. Os microrganismos também podem colonizar qualquer tecido, e os antígenos podem ser produzidos nesses tecidos. Como o sistema imune gera um amplo número de clones de linfócitos, cada um dos quais com especificidade diferente, há pouquíssimas células T e B *naive* específicas para um antígeno qualquer (cerca de 1 em cada 10^5 ou 10^6 linfócitos). Esse pequeno número tem de conseguir localizar o antígeno estranho. É impossível para as poucas células T específicas para um dado antígeno qualquer patrulharem constantemente todos os possíveis tecidos onde os antígenos podem entrar ou ser produzidos. O mecanismo que resolve esse problema é um sistema especializado para capturar um antígeno a partir de seu sítio de entrada ou produção e levá-lo para os órgãos linfoides ao longo dos quais as células T *naive* circulam. As células que capturam antígenos e os exibem aos linfócitos T são chamadas **células apresentadoras de antígeno (APCs, do inglês, *antigen-presenting cells*).**

Os linfócitos T reconhecem e respondem aos antígenos célula-associados e não aos antígenos solúveis livres de célula. Uma das principais funções dos linfócitos T é eliminar microrganismos que sobrevivem no interior das células. Além disso, as células T interagem e ativam outras células, como os linfócitos B e macrófagos. Para garantir que as células T reconheçam os antígenos associados a células e não os antígenos livres, bem como interajam com outras células, os receptores

antigênicos da célula T evoluíram para detectar antígenos derivados de antígenos que estejam no meio intracelular e que sejam exibidos por moléculas da superfície celular. Isso contrasta notavelmente com os linfócitos B, cujos receptores antigênicos e produtos secretados, os anticorpos, podem reconhecer antígenos em microrganismos e na superfície de células do hospedeiro, além de antígenos solúveis livres de células. A tarefa de exibir antígenos associados a uma célula do hospedeiro para serem reconhecidos por células T $CD4^+$ e $CD8^+$ é realizada por proteínas especializadas chamadas moléculas do **complexo principal de histocompatibilidade (MHC, do inglês, *major histocompatibility complex*)**, as quais são expressas nas superfícies das células do hospedeiro.

As moléculas do MHC também exibem antígenos de diferentes compartimentos celulares a diferentes classes de células T, garantindo assim que o tipo "correto" de célula T reconheça o tipo de microrganismo que a célula T melhor elimina. Por exemplo, a defesa contra microrganismos presentes na circulação tem de ser mediada por anticorpos, e a produção dos anticorpos mais efetivos requer a participação de células T auxiliares $CD4^+$. Entretanto, um mesmo microrganismo (p. ex.: um vírus) infectando uma célula tecidual se torna inacessível ao anticorpo, e sua erradicação pode exigir que linfócitos T citotóxicos (CTL, do inglês, *cytotoxic T lymphocyte*) $CD8^+$ destruam as células infectadas e eliminem o reservatório de infecção. As moléculas do MHC exercem papel decisivo na segregação dos antígenos internalizados oriundos do meio externo *versus* antígenos produzidos dentro das células, e os exibe a diferentes populações de célula T.

A elucidação da biologia celular e das bases moleculares da apresentação de antígeno tem sido um feito impressionante, com base em experimentos funcionais, análises bioquímicas e biologia estrutural. Neste capítulo, descreveremos como os antígenos são capturados e exibidos para as células T. No Capítulo 7, descreveremos os receptores antigênicos de células T e, nos Capítulos 9, 10 e 11, discutiremos a ativação e as funções efetoras dos linfócitos T.

Propriedades dos Antígenos Reconhecidos Pelos Linfócitos T

As pesquisas sobre a natureza do reconhecimento antigênico pela célula T mostraram que, já na década de 1960, as formas físico-químicas de antígenos reconhecidos pelas células T eram diferentes daquelas reconhecidas por linfócitos B e anticorpos. Esse conhecimento levou à descoberta de como os antígenos são vistos pelas células T. Várias características de reconhecimento antigênico são exclusivas dos linfócitos T (Tabela 6.1).

Tabela 6.1

Características do Reconhecimento Antigênico Dependente do Complexo Principal de Histocompatibilidade por Linfócitos T

Características de Antígenos Reconhecidos por Células T	Explicação
A maioria das células T reconhece peptídeos e não outras moléculas.	Apenas peptídeos se ligam a moléculas do MHC.
As células T reconhecem peptídeos lineares e não determinantes conformacionais de antígenos proteicos.	Peptídeos lineares se ligam às fendas das moléculas do MHC, e a conformação proteica é perdida durante a geração desses peptídeos.
As células T reconhecem antígenos associados à célula e não antígenos solúveis.	A maioria dos receptores de célula T reconhecem apenas complexos peptídeo-MHC, e as moléculas do MHC são proteínas de membrana que exibem peptídeos ligados de maneira estável nas superfícies celulares.
As células T $CD4^+$ e $CD8^+$ reconhecem preferencialmente antígenos ingeridos a partir do ambiente extracelular contidos em vesículas, e antígenos produzidos no citosol, respectivamente.	As vias de montagem de moléculas do MHC asseguram que as moléculas de classe II exibam peptídeos que são proteoliticamente degradados em vesículas nas APCs, e que as moléculas de classe I apresentem peptídeos de proteínas citosólicas que são degradadas por proteassomos citosólicos.

MHC, Complexo de histocompatibilidade principal.

A maioria dos linfócitos T reconhece apenas peptídeos curtos, enquanto as células B podem reconhecer peptídeos, proteínas dobradas intactas, ácidos nucleicos, carboidratos, lipídeos e pequenos compostos químicos. Como resultado, as respostas imunes mediadas pelas células T em geral são induzidas por antígenos proteicos estranhos (fonte natural de peptídeos estranhos), enquanto as respostas imunes humorais são induzidas por antígenos proteicos e não proteicos. Algumas células T são específicas para pequenas substâncias químicas, como o urushiol da hera venenosa, os β-lactâmicos dos anticorpos penicilina, e até íons metálicos, como níquel e berílio. Nessas situações, é provável que os compostos químicos se liguem a autoproteínas, entre as quais moléculas do MHC, e que as células T reconheçam os autopeptídeos modificados ou as moléculas do MHC alteradas. A especificidade peptídica das células T é verdadeira para células $CD4^+$ e $CD8^+$. Conforme discutiremos ao final deste capítulo, existem outras pequenas populações de células T capazes de reconhecer antígenos não proteicos.

Os receptores antigênicos das células T $CD4^+$ e $CD8^+$ são específicos para os antígenos peptídicos exibidos pelas moléculas do MHC (Fig. 6.1). A função das moléculas do MHC é se ligar e exibir peptídeos para o reconhecimento pelas células T $CD4^+$ e $CD8^+$. Conforme veremos no Capítulo 8, o reconhecimento do MHC também é requerido para a maturação destas células T, garantindo assim que as células T maduras sejam restritas para reconhecimento apenas de moléculas do MHC ligadas a antígenos. As moléculas do MHC podem se ligar e exibir peptídeos, e não outros tipos de moléculas, sendo por isso que as células T $CD4^+$ e $CD8^+$ reconhecem peptídeos. As moléculas do MHC são altamente polimórficas e as variações nas moléculas do MHC existentes entre os indivíduos influenciam tanto a ligação do peptídeo como o reconhecimento pela célula T. Uma única célula T pode reconhecer um peptídeo específico exibido por apenas uma em meio a um amplo número de diferentes moléculas do MHC existentes. Esse fenômeno é chamado **restrição do MHC**, e descreveremos suas bases moleculares mais adiante, ainda neste capítulo. Há também duas classes de moléculas do MHC, chamadas de classe I e de classe II. As células T $CD4^+$ reconhecem peptídeos exibidos pelo MHC de classe II, enquanto as células T $CD8^+$ reconhecem peptídeos exibidos pelo MHC de classe I. Os mecanismos subjacentes e a importância funcional dessa separação são discutidos posteriormente.

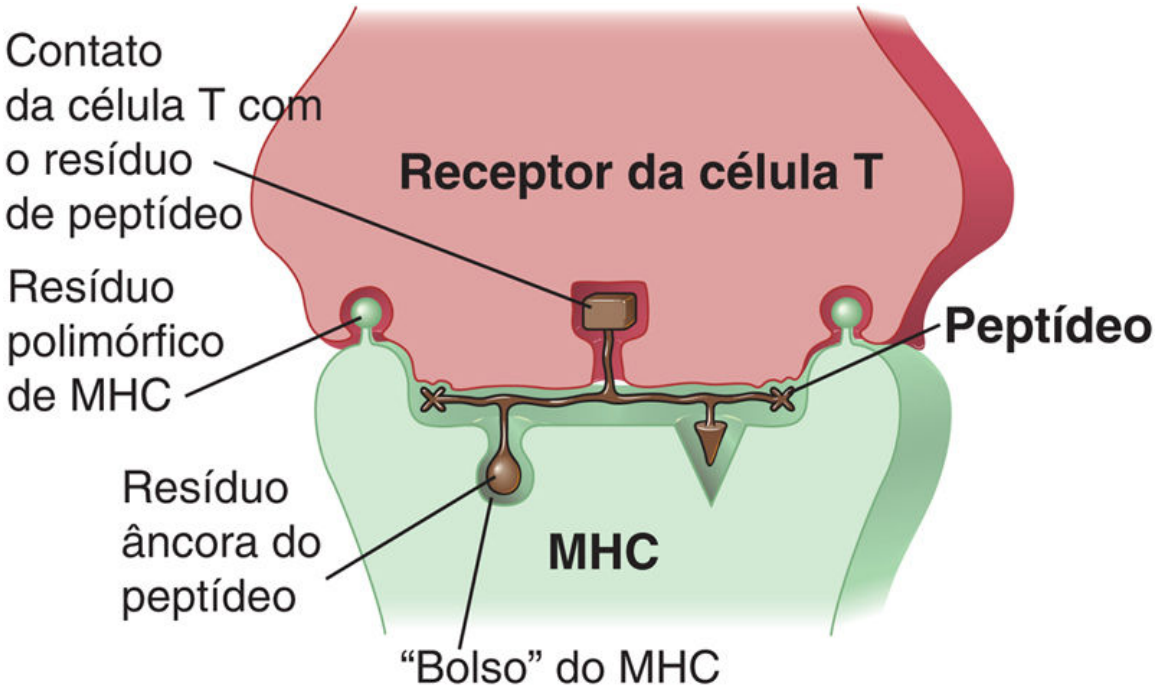


FIGURA 6.1 Um modelo para o reconhecimento de um peptídeo-complexo principal de histocompatibilidade pela célula T.
Essa ilustração esquemática mostra uma molécula do MHC se ligando e exibindo um peptídeo e um receptor de célula T reconhecendo o complexo peptídeo-molécula de MHC. Como discutido adiante no texto, os peptídeos associados ao MHC contêm alguns resíduos que os ancoram em bolsos na fenda da molécula de MHC e outros resíduos que são reconhecidos por receptores de antígeno da célula T. Os resíduos de MHC que podem variar entre os indivíduos (resíduos polimórficos) também são reconhecidos pelo receptor da célula T. Portanto, as células T "enxergam" ambos, antígenos peptídicos e moléculas do MHC.

Começaremos a nossa discussão sobre apresentação de antígeno descrevendo como as APCs capturam antígenos e os transportam até as células T.

Captura do Antígeno e as Funções das Células Apresentadoras de Antígeno

A constatação de que várias células, que não as células T, são necessárias para a apresentação de antígeno aos linfócitos T ocorreu pela primeira vez a partir de estudos em que antígenos proteicos, hoje sabidamente deflagradores de respostas de célula T, foram marcados e injetados em camundongos, com o objetivo de determinar quais células ligavam (e, por implicação, reconheciam) esses antígenos. O resultado foi que os antígenos injetados estavam associados principalmente a células não linfoides, o que foi uma surpresa, pois até então era sabido que os linfócitos eram as células que reconheciam e respondiam especificamente a antígenos estranhos. A esse tipo de experimento, seguiram-se rapidamente estudos demonstrando que antígenos proteicos fisicamente associados aos macrófagos eram muito mais imunogênicos, em uma base molar, do que os mesmos antígenos injetados na forma solúvel em camundongos. Nesses experimentos iniciais, as populações de macrófagos estudadas possivelmente continham células dendríticas (DCs, do inglês, *dendritic cells*), uma vez que, conforme discutiremos na próxima seção, as células T *naive* são mais bem ativadas por antígenos apresentados por DCs. Subsequentemente, experimentos usando culturas de células mostraram que células T $CD4^+$ purificadas não conseguiam responder a antígenos proteicos, mas respondiam muito bem quando eram adicionadas células não T, como DCs ou macrófagos, às culturas. Esses resultados levaram ao conceito de que uma etapa decisiva na indução de uma resposta de célula T consiste na apresentação do antígeno aos linfócitos T feita por outras células, as quais foram denominadas *células apresentadoras de antígeno (APCs, do inglês,* antigen-presenting cells*)*. As primeiras APCs identificadas foram os macrófagos, e as células T respondedoras eram células auxiliares $CD4^+$. Logo ficou claro que várias populações celulares podem atuar como APCs em diferentes situações. Por convenção, o termo *APC* continua sendo usado em referência a células especializadas que exibem antígenos a linfócitos T $CD4^+$. Como veremos adiante, neste mesmo capítulo, todas as células nucleadas podem exibir antígenos peptídicos aos linfócitos T $CD8^+$, porém nem todas são chamadas APCs.

Propriedades Gerais das Células Apresentadoras de Antígeno

Diferentes tipos celulares atuam como células apresentadoras de antígeno para ativar células T* naive *ou células T efetoras previamente diferenciadas (Fig. 6.2 e Tabela 6.2). As DCs são as APCs mais efetivas para ativação de células T *naive* e, portanto, para iniciar as respostas de células T. As DCs foram introduzidas no Capítulo 2, e suas funções na imunidade inata foram discutidas no Capítulo 4. Os macrófagos e linfócitos B também atuam como APCs, todavia principalmente para células T auxiliares $CD4^+$ previamente ativadas, em vez de células T *naive*. Seus papéis como APCs são descritos mais adiante, neste capítulo, e em mais detalhes nos Capítulos 10 e 12. DCs, macrófagos e linfócitos B expressam moléculas do MHC classe II e outras moléculas envolvidas na estimulação de células T, sendo portanto capazes de ativar linfócitos T $CD4^+$. Por esse motivo, esses três tipos celulares foram chamados APCs profissionais. Esse termo, porém, às vezes é usado em referência apenas às DCs, por seu papel exclusivo na ativação de células T *naive*.

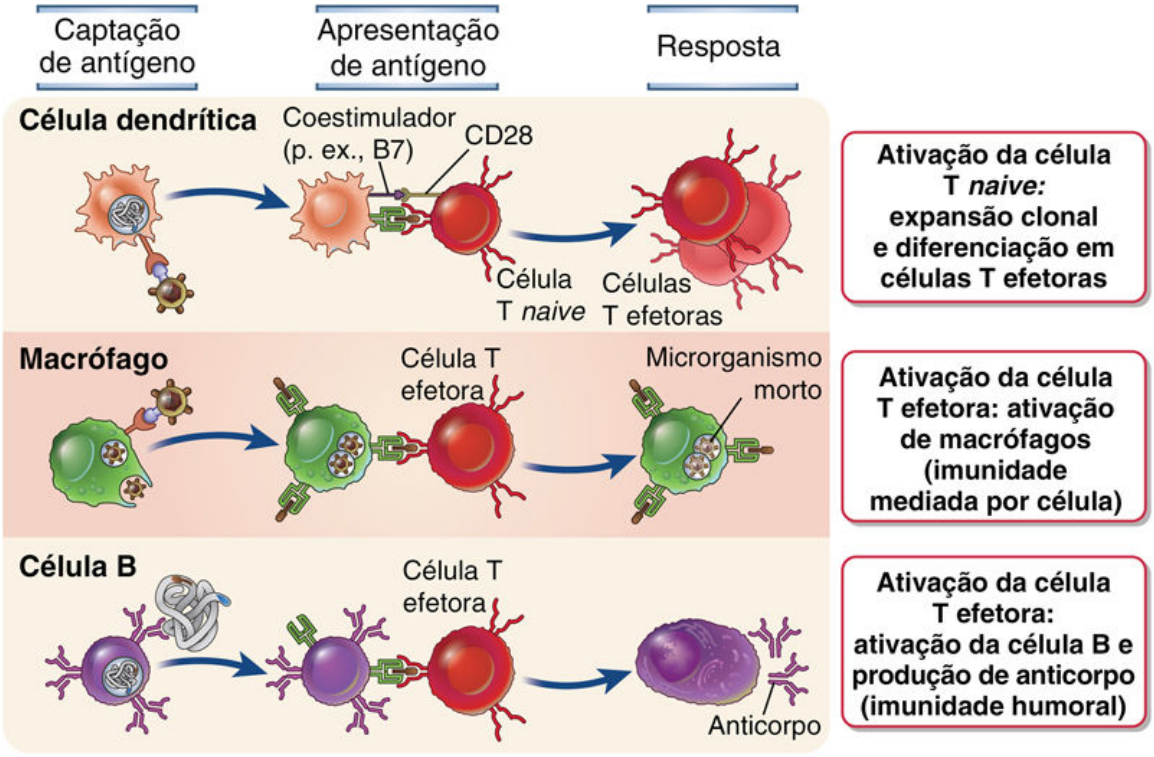


FIGURA 6.2 Funções de diferentes células apresentadoras de antígeno.

Os três tipos principais de APCs para células T $CD4^+$ atuam exibindo antígenos em diferentes estágios e em diferentes tipos de respostas imune. Note que as células T efetoras ativam macrófagos e linfócitos B produzindo citocinas e expressando moléculas de superfície (descritas em capítulos subsequentes).

Tabela 6.2

Propriedades e Funções das Células Apresentadoras de Antígeno

Tipo Celular	Expressão de: Complexo Principal de Histocompatibilidade de Classe II	Expressão de: Coestimuladores	Principal Função
Células dendríticas	Constitutiva; aumenta com a maturação; é aumentada pelo IFN-γ e por células T (interações CD40L-CD40)	Constitutiva; expressão aumentada com sinais do TLR, IFN-γ, interações CD40-CD40L	Apresentação antigênica para células T *naive* na iniciação das respostas de célula T a antígenos proteicos (*priming*)
Macrófagos	Baixa ou negativa; aumentada por IFN-γ e por células T (interações CD40L-CD40)	Expressão aumentada com sinais do TLR, IFN-γ, interações CD40-CD40L	Apresentação antigênica para células T $CD4^+$ efetoras na fase efetora das respostas imunes mediadas por células (*killing* de microrganismos fagocitados intensificado por célula T)
Linfócitos B	Constitutiva; aumentada por IL-4, ligação cruzada do receptor antigênico e células T (interações CD40L-CD40)	Expressão aumentada por células T (interações CD40-CD40L), ligação cruzada do receptor antigênico	Apresentação antigênica para células T auxiliares $CD4^+$ em respostas imunes humorais (interações célula T auxiliar-célula B)
Células endoteliais vasculares	Induzível por IFN-γ; constitutiva em seres humanos	Baixa; pode ser induzível	Pode promover ativação de células T antígeno-específicas no sítio de exposição do antígeno e em enxertos de órgãos
Várias células epiteliais e mesenquimais	Induzível por IFN-γ	Provavelmente nenhuma	Sem função fisiológica conhecida; possível papel em doenças inflamatórias

As moléculas do MHC também são expressas em células epiteliais tímicas, onde dirigem a seleção de células T em maturação (Capítulo 8). *IFN-γ*, interferon-γ; *IL-4*, interleucina-4; *LPS*, lipopolissacarídeo.

As células apresentadoras de antígeno exibem complexos peptídeo-MHC para serem reconhecidos pelas células T e também fornecem estímulos adicionais que são requeridos para respostas integrais de células T. O antígeno é o primeiro sinal, e esses estímulos extras às vezes são chamados de segundos sinais. São mais importantes para a ativação de células T *naive* do que para a reestimulação de células de memória e efetoras previamente ativadas. As moléculas ligadas à membrana das APCs que atuam junto com os antígenos para estimular células T são chamadas **coestimuladores**. As APCs também secretam citocinas que exercem papéis decisivos na diferenciação das células T *naive* em células efetoras. Esses coestimuladores e as citocinas são descritos nos Capítulos 9 e 10.

A função de apresentação de antígeno das APCs é intensificada pela exposição aos produtos microbianos. Esse é um dos motivos pelos quais o sistema imune responde melhor aos microrganismos do que a substâncias não microbianas inócuas. DCs e macrófagos expressam receptores do tipo *Toll* e outros sensores microbianos (Capítulo 4), e respondem aumentando a expressão de moléculas do MHC e coestimuladores, melhorando a eficiência da apresentação antigênica, e ativando as APCs a produzirem citocinas que ajudam a estimular as respostas de célula T. Ademais, as DCs ativadas por microrganismos expressam receptores de quimiocinas que facilitam sua migração para os sítios onde as células T estão presentes. A indução de respostas ideais de células T a antígenos proteicos purificados, na ausência de infecção, requer que os antígenos sejam administrados com substâncias chamadas **adjuvantes**. Os adjuvantes são produtos microbianos, como micobactérias mortas (para uso experimental), ou substâncias que elicitam respostas imunes inatas, como fazem os microrganismos, que então intensificam a expressão de coestimuladores e citocinas, além de estimularem as funções de apresentação antigênica das APCs.

As células apresentadoras de antígeno que apresentam antígenos para células T também recebem sinais de volta desses linfócitos, os quais intensificam a função de apresentação antigênica das APCs. Em particular, as células T $CD4^+$ ativadas pelo reconhecimento do antígeno e coestimulação expressam moléculas de superfície, em especial uma molécula chamada CD40-ligante (CD154) que se liga ao CD40 presente nas DCs e macrófagos, enquanto as células T também secretam citocinas, como o interferon-γ (IFN-γ), que se liga aos seus receptores presentes nessas APCs. A combinação dos sinais de CD40 com as citocinas ativa as APCs, resultando em habilidade aumentada de processar e apresentar antígenos, expressão aumentada de coestimuladores e secreção de citocinas que

ativam células T. Essa interação bidirecional entre as APCs exibindo o antígeno e os linfócitos T reconhecendo o antígeno atua como uma alça de *feedback* positivo que tem papel importante na maximização da resposta imune (Capítulo 9).

Papel das Células Dendríticas na Captura e Exibição do Antígeno

Microrganismos e antígenos proteicos que entram através dos epitélios são concentrados nos linfonodos, enquanto os antígenos transportados pelo sangue são capturados principalmente no baço (Fig. 6.3). As DCs são as células mais capacitadas para capturar, transportar e apresentar antígenos para células T. As rotas comuns pelas quais os antígenos estranhos (p. ex.: microrganismos) entram em um hospedeiro são a pele e os epitélios dos sistemas gastrintestinal e respiratório. Em adição, os antígenos microbianos podem ser produzidos em qualquer tecido que tenha sido colonizado ou infectado por um microrganismo. As DCs clássicas estão presentes na maioria dos epitélios localizados na interface com o ambiente externo, como a pele e os tratos gastrintestinal e respiratório, bem como nos tecidos, e são enriquecidas nos órgãos linfoides. A pele, os epitélios de mucosa e os órgãos parenquimatosos contêm numerosos capilares linfáticos que drenam a linfa desses sítios e para o interior dos linfonodos regionais. Alguns antígenos são transportados na linfa pelas APCs (primariamente, DCs), as quais os capturam e entram nos vasos linfáticos, enquanto outros antígenos entram nos linfáticos na forma livre de células. Assim, a linfa contém uma amostra de todos os antígenos solúveis e célula-associados que entram no corpo através dos epitélios e estão presentes nos tecidos. Os antígenos são concentrados nos linfonodos, os quais estão interpostos ao longo dos vasos linfáticos e atuam como filtros que amostram a linfa antes desta alcançar o sangue (Capítulo 2). Os antígenos que entram na corrente sanguínea podem ser amostrados pelas DCs residentes no baço, ou capturados por DCs circulantes (principalmente as plasmacitoides) e levados ao baço.

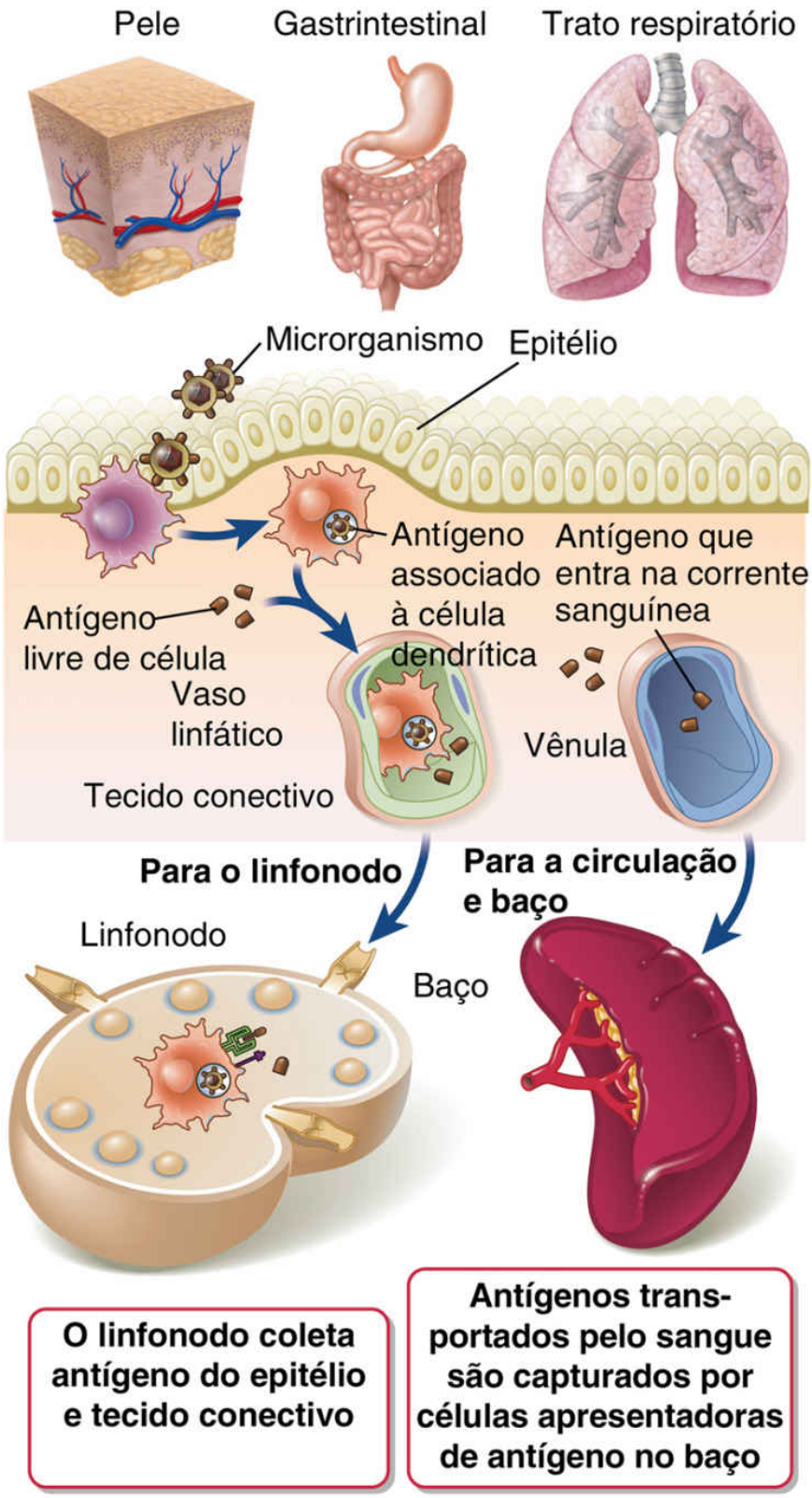
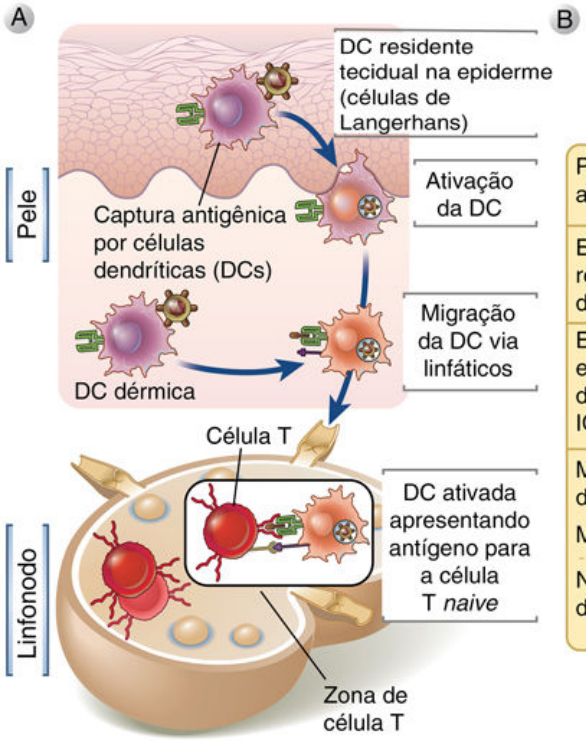


FIGURA 6.3 Rotas de entrada de antígeno.
Os antígenos microbianos comumente entram pela pele e tratos gastrintestinal e respiratório, onde são capturados pelas células

dendríticas e transportados para os linfonodos regionais. Os antígenos que entram na corrente sanguínea são capturados pelas APCs no baço.

As células dendríticas residentes nos epitélios e tecidos capturam antígenos proteicos. As DCs em repouso residentes nos tecidos (por vezes referidas como DCs imaturas ou em repouso) expressam numerosos receptores de membrana, como as lectinas tipo C, que se ligam a microrganismos. As DCs usam esses receptores para capturar e endocitar microrganismos ou proteínas microbianas e, então, processam as proteínas ingeridas em peptídeos capazes de se ligar a moléculas do MHC. Além da endocitose mediada por receptor e da fagocitose, as DCs podem ingerir antígenos por pinocitose, um processo que não envolve receptores de reconhecimento específico, mas que serve para internalizar quaisquer moléculas que possam estar na fase fluida nas vizinhanças das DCs.

Simultaneamente, porém de modo independente da apresentação de antígeno, as células dendríticas são ativadas pelos produtos microbianos e amadurecem em APCs potentes que transportam antígenos capturados até os linfonodos drenantes (Fig. 6.4). No momento em que os antígenos microbianos estão sendo capturados, os produtos microbianos, em geral diferentes dos antígenos proteicos reconhecidos pelas células T, são reconhecidos por receptores do tipo *Toll* e outros receptores de reconhecimento de padrão inatos presentes nas DCs e em outras células, gerando respostas imunes inatas (Capítulo 4). As DCs são ativadas por esses sinais e por citocinas, como o fator de necrose tumoral (TNF), produzidas em resposta aos microrganismos. As DCs ativadas (também chamadas DCs maduras) perdem sua adesividade pelos epitélios ou tecidos e começam a expressar um receptor de quimiocina chamado CCR7, específico para duas quimiocinas, CCL19 e CCL21, produzidas nos vasos linfáticos e nas zonas de célula T dos linfonodos. Essas quimiocinas atraem as DCs que contêm antígenos microbianos para dentro dos linfáticos drenantes e, por fim, para dentro das zonas de célula T dos linfonodos regionais. As células T *naive* também expressam CCR7 e é por isso que as células T *naive* circulam ao longo das mesmas regiões dos linfonodos onde as DCs contendo antígeno estão concentradas (Capítulo 3). A colocalização das DCs ativadas contendo antígeno e das células T *naive* maximiza a probabilidade de células T com receptores para o antígeno encontrarem esse antígeno.



	Célula dendrítica residente tecidual em repouso	Célula dendrítica ativada
Principal função na ativação da célula T	Captura antigênica	Apresentação antigênica para células T
Expressão de receptores Fc, receptor de manose	++	–
Expressão de moléculas envolvidas na ativação da célula T: B7-1, B7-2, ICAM-1, IL-12	– ou baixa	++
Moléculas do MHC de classe II		
Meia-vida	~10 h	>100 h
Número de moléculas de superfície	~10^6	~7 x 10^6

FIGURA 6.4 Papel das células dendríticas na captura e apresentação antigênica.
A, DCs imaturas na pele (células de Langerhans) ou na derme (DCs dérmicas) capturam antígenos que entram pela epiderme e os transportam para os linfonodos regionais. Durante essa migração, as células dendríticas amadurecem e se tornam APCs eficientes. **B,** A tabela resume algumas das alterações ocorridas durante a maturação da célula dendrítica que são importantes nas funções dessas células.

A ativação também converte as células dendríticas do estado de células cuja função primária é capturar antígeno para o estado de células capazes de apresentar antígenos para células T* naive *e ativar os linfócitos. As DCs ativadas expressam altos níveis de moléculas do MHC com peptídeos ligados, bem como de coestimuladores necessários à ativação da célula T. Dessa forma, no momento em que essas células chegam aos linfonodos, já se desenvolveram em APCs potentes com capacidade de ativar linfócitos T. As células T *naive* que recirculam pelos linfonodos encontram estas APCs, e as células T específicas para os complexos peptídeo-MHC exibidos são ativadas. Essa é a etapa inicial na indução das respostas de célula T a antígenos proteicos.

Na ausência de infecção ou inflamação, as DCs clássicas capturam antígenos nos tecidos, mas não produzem altos níveis de citocinas e

coestimuladores requeridos para induzir respostas imunes efetivas. A função dessas DCs pode ser apresentar autoantígenos para células T autorreativas e, dessa forma, causar inativação ou morte das células T ou gerar células T reguladoras. Esses mecanismos são importantes para a manutenção da autotolerância e prevenção da autoimunidade (Capítulo 15).

Os antígenos também são transportados para os órgãos linfoides na forma solúvel. As DCs residentes nos linfonodos e no baço podem capturar antígenos transportados pela linfa e pelo sangue, respectivamente, e também podem ser direcionadas para a maturação por produtos microbianos. Ao entrar em um linfonodo através de um vaso linfático aferente, a linfa drena para o seio subcapsular e uma parte entra nos condutos de células reticulares fibroblásticas (FRCs, do inglês, *fibroblast reticular cells*) que se originam a partir do seio e atravessam o córtex (Capítulo 2). Uma vez dentro dos condutos, os antígenos de baixo peso molecular podem ser extraídos pelas DCs cujos processos se interdigitam por entre asFRCs. Outros antígenos presentes no seio subcapsular são captados pelos macrófagos que os transportam para dentro dos folículos e os apresentam às células B residentes. As células B no linfonodo também podem reconhecer e internalizar antígenos solúveis.

A coleta e concentração de antígenos estranhos nos linfonodos são suplementadas por outras adaptações anatômicas que exercem funções semelhantes. As superfícies das mucosas dos sistemas gastrintestinal e respiratório, além de serem drenadas por capilares linfáticos, contêm coleções especializadas de tecido linfoide secundário que pode amostrar diretamente os conteúdos luminais desses órgãos para detectar a presença de material antigênico. Dentre esses órgãos linfoides de mucosa, os mais bem caracterizados são as placas de Peyer do íleo e as tonsilas faríngeas (Capítulo 14). As APCs presentes no baço monitoram a corrente sanguínea para detectar quaisquer antígenos que alcancem a circulação. Esses antígenos podem chegar ao sangue diretamente a partir dos tecidos, ou através da linfa oriunda do ducto torácico.

Várias propriedades das DCs as tornam as APCs mais eficientes para iniciar respostas primárias de células T.

- As DCs estão estrategicamente localizadas em sítios de entrada comuns de microrganismos e antígenos estranhos (nos epitélios), bem como em tecidos que podem ser colonizados por microrganismos.

- As DCs expressam receptores que as capacitam a capturar e responder aos microrganismos.
- As DCs migram a partir dos epitélios e tecidos via linfáticos, preferencialmente para dentro das zonas de células T nos linfonodos, e os linfócitos T *naive* também circulam pelas mesmas regiões dos linfonodos.
- DCs maduras expressam altos níveis de complexos peptídeo-MHC, coestimuladores e citocinas, todos necessários à ativação dos linfócitos T *naive*.

Funções de Outras Células Apresentadoras de Antígeno

Embora as DCs tenham papel decisivo na iniciação de respostas primárias de células T, outros tipos celulares também são APCs importantes em diferentes situações (Fig. 6.2 e Tabela 6.2).

Nas respostas imunes celulares, os macrófagos apresentam os antígenos de microrganismos fagocitados para células T efetoras que respondem ativando os macrófagos para que destruam os microrganismos ingeridos. Esse processo é central à imunidade mediada por células (Capítulo 10). Os monócitos circulantes conseguem migrar para qualquer sítio de infecção e inflamação, onde se diferenciam em macrófagos e fagocitam microrganismos como um prelúdio à destruição. As células T $CD4^+$ reconhecem antígenos microbianos apresentados pelos macrófagos e fornecem sinais que intensificam as atividades microbicidas destes macrófagos.

Nas respostas imunes humorais, os linfócitos B internalizam antígenos proteicos e apresentam peptídeos derivados destas proteínas às células T auxiliares. Essa função de apresentação de antígenos das células B é essencial à produção de anticorpo dependente de célula T auxiliar (Capítulo 12).

Todas as células nucleadas podem apresentar peptídeos, que derivam de antígenos proteicos citosólicos, aos CTLs $CD8^+$. Todas as células nucleadas são suscetíveis a infecções virais e mutações causadoras de câncer. Portanto, é importante que o sistema imune seja capaz de reconhecer antígenos citosólicos, como os antígenos virais e proteínas mutantes, em qualquer tipo celular. Os CTLs $CD8^+$ constituem a população celular que reconhece esses antígenos e elimina as células onde tais antígenos são produzidos. Os CTLs $CD8^+$ também podem reconhecer

microrganismos fagocitados, se estes ou seus antígenos escaparem das vesículas fagocíticas no interior do citosol.

Outros tipos celulares que expressam moléculas do MHC de classe II e podem apresentar antígenos para as células T incluem as células endoteliais e algumas células epiteliais. As células endoteliais vasculares podem apresentar antígenos a células T sanguíneas que aderem às paredes vasculares, e esse processo pode contribuir para o recrutamento e ativação de células T efetoras em reações imunes mediadas por células. As células endoteliais presentes em enxertos também são alvos de células T que reagem contra antígenos do enxerto (Capítulo 17). Várias células epiteliais e mesenquimais podem expressar moléculas do MHC de classe II em resposta à citocina IFN-γ. A importância fisiológica da apresentação de antígeno por essas populações celulares não é clara. Como a maioria não expressa coestimuladores e é ineficiente no processamento de proteínas em peptídeos ligantes de MHC, é improvável que contribuam de modo significativo para a maioria das respostas de célula T. As células epiteliais tímicas expressam constitutivamente moléculas do MHC e exercem papel decisivo na apresentação de complexos peptídeo-MHC para as células T em maturação no timo, como parte dos processos de seleção que moldam o repertório de especificidades das células T (Capítulo 8).

Agora que descrevemos as funções das APCs e o modo como os antígenos são capturados a partir do ambiente e levados para os órgãos linfoides, vamos nos voltar para o mecanismo de exibição antigênica e, em especial, para o papel das moléculas do MHC neste processo.

O Complexo Principal de Histocompatibilidade

A descoberta do papel do MHC no reconhecimento antigênico pelas células T $CD4^+$ e $CD8^+$ foi fundamental para a nossa atual compreensão acerca da ativação e das funções dos linfócitos. O MHC foi descoberto a partir de estudos sobre transplante de tecido em camundongos, e foi somente depois de muitos anos que a estrutura e a função das moléculas do MHC foram elucidadas.

Descoberta do Complexo Principal de Histocompatibilidade

O Complexo Principal de Histocompatibilidade Murino (Complexo H-2)

Desde os primeiros transplantes, sabe-se que os tecidos, como a pele, trocados entre indivíduos não idênticos são rejeitados, enquanto os mesmos enxertos realizados entre gêmeos idênticos são aceitos. Esse resultado mostrou que a rejeição tecidual é um processo geneticamente determinado. Nos anos 1940, para analisar a base genética da rejeição ao enxerto, pesquisadores produziram linhagens murinas consanguíneas (*inbred*) por meio do acasalamento repetitivo entre irmãos. Camundongos consanguíneos são homozigotos em todos os *locus* genéticos (i. e., têm duas cópias do mesmo alelo de cada gene, uma de cada um dos pais) e todo camundongo de uma linhagem consanguínea é geneticamente idêntico (singênico) a todos os outros camundongos da mesma linhagem (i. e., todos expressam os mesmos alelos). Diferentes linhagens podem expressar alelos diferentes e são ditas alogênicas entre si. Reproduzindo linhagens congênitas de camundongos que rejeitaram enxertos de outras linhagens, mas que eram idênticas quanto a todos os outros genes, esses pesquisadores demonstraram que uma única região genética no cromossomo 17 é primariamente responsável pela rápida rejeição de enxertos teciduais, e essa região foi então chamada *locus* de histocompatibilidade principal (*histo*, tecido). O *locus* particular identificado em camundongos continha um gene codificador de um antígeno de grupo sanguíneo chamado antígeno II e, por isso, essa região foi denominada histocompatibilidade-2, ou simplesmente H-2.

Inicialmente, acreditava-se que esse *locus* continha um único gene que controlava a compatibilidade tecidual. Entretanto, ocorreram eventos ocasionais de recombinação junto ao *locus* H-2 durante o intercruzamento de linhagens diferentes, indicando que o *locus* na verdade continha vários genes diferentes, porém estreitamente ligados, muitos dos quais estavam envolvidos na rejeição aos enxertos. A região genética que controlava a rejeição aos enxertos e continha vários genes ligados foi denominada **complexo principal de histocompatibilidade**. Embora no momento em que os primeiros experimentos foram realizados não se soubesse, a rejeição de transplantes é em grande parte um processo mediado pelas células T (Capítulo 17) e, portanto, não surpreende que exista relação entre rejeição de enxerto e genes do MHC, os quais codificam as moléculas do MHC ligantes de peptídeo reconhecidas pelas células T.

O Complexo de Histocompatibilidade Principal Humano (*Locus* do Antígeno Leucocitário Humano)

O MHC humano foi descoberto durante a busca de moléculas de superfície celular em um indivíduo que seriam reconhecidas como estranhas por outro indivíduo. Essa tarefa se tornou viável quando foi descoberto que indivíduos que receberam múltiplas transfusões sanguíneas e pacientes que receberam transplantes de rim tinham anticorpos que reconheciam células dos doadores de sangue ou de rim, e que mulheres multíparas tinham anticorpos circulantes que reconheciam células paternas. As proteínas reconhecidas por esses anticorpos foram chamadas **antígenos leucocitários humanos (HLA, do inglês, *human leukocyte antigens*)** *(leucocitários,* porque os anticorpos foram testados por meio da ligação aos leucócitos de outros indivíduos; e *antígenos*, porque as moléculas foram reconhecidas pelos anticorpos). Análises subsequentes mostraram que, assim como em camundongos, a herança de genes (alelos HLA) codificadores de antígenos HLA particulares constitui um dos principais determinantes de aceitação ou rejeição de enxertos (Capítulo 17). Estudos bioquímicos forneceram o gratificante resultado de que as proteínas codificadas no *locus* H-2 murino e as proteínas HLA identificadas em seres humanos tinham estruturas básicas muito parecidas. A partir desses resultados, chegou-se à conclusão de que os genes determinantes do destino dos tecidos enxertados estão presentes em todas as espécies de mamíferos e são homólogos aos genes H-2 primeiramente identificados em camundongos. Esses genes são os chamados genes do MHC. Outros genes polimórficos que contribuem para

a rejeição de enxertos, porém em menor grau, são chamados genes de histocompatibilidade menor. Retomaremos esses genes no Capítulo 17, ao discutirmos imunologia do transplante.

Genes da Resposta Imune

Por quase 20 anos após a descoberta do MHC, seu único papel comprovado era na rejeição a enxertos. Isso era um enigma para os imunologistas, porque o transplante não é um fenômeno natural e não havia motivo para que um conjunto de genes devesse ser preservado ao longo da evolução, se a única função dos genes era controlar a rejeição de enxertos de tecidos estranhos. Nos anos 1960 e 1970, foi descoberto que os genes do MHC tinham importância fundamental para todas as respostas imunes a antígenos proteicos. Os imunologistas constataram que linhagens consanguíneas de uma única espécie (cobaias ou camundongos) diferiam quanto à capacidade de produzir anticorpos contra alguns polipeptídeos sintéticos simples, e a responsividade era herdada como um caráter mendeliano dominante. Os genes relevantes foram chamados *genes de resposta imune (Ir, do inglês,* immune response*)* e estavam todos localizados no MHC. Hoje, sabemos que os genes *Ir* na verdade são os genes de MHC codificadores das moléculas do MHC, que diferem quanto à habilidade de se ligar e exibir peptídeos derivados de vários antígenos proteicos. As linhagens responsivas, que podem montar respostas imunes a um antígeno polipeptídico particular, herdam alelos de MHC cujos produtos se ligam a peptídeos derivados desses antígenos e formam complexos peptídeo-MHC que podem ser reconhecidos pelas células T auxiliares. Essas células T, então, ajudam as células B a produzirem anticorpos. As linhagens não responsivas expressam moléculas do MHC incapazes de se ligar a peptídeos derivados do antígeno polipeptídico e, portanto, são linhagens incapazes de gerar células T auxiliares ou anticorpos específicos para o antígeno. Também foi posteriormente mostrado que muitas doenças autoimunes estavam associadas à herança de alelos de MHC particulares, consolidando firmemente a posição desses genes no centro dos mecanismos que controlam as respostas imunes. Esses estudos forneceram o impulso para a realização de análises mais detalhadas dos genes do MHC e de suas proteínas.

O Fenômeno da Restrição do MHC

A prova formal de que o MHC está envolvido no reconhecimento antigênico pelas células T veio da demonstração experimental da restrição

do MHC por Rolf Zinkernagel e Peter Doherty. Em seu estudo clássico, relatado em 1974, esses pesquisadores examinaram o reconhecimento de células infectadas por vírus pelos CTLs vírus-específicos em camundongos consanguíneos. Quando um camundongo é infectado por um vírus, células T $CD8^+$ específicas para o vírus são ativadas e se diferenciam em CTLs no animal. Quando a função dessas células é analisada *in vitro*, vê-se que reconhecem e matam as células infectadas pelo vírus somente se essas células expressarem moléculas MHC que são expressas no animal do qual os CTLs foram extraídos (Fig. 6.5). Portanto, as células T devem ser específicas não somente para o antígeno, como também para as moléculas do MHC, e o reconhecimento antigênico pela célula T é restrito pelas moléculas do MHC que a célula T "enxerga". Estudos subsequentes estabeleceram que o reconhecimento de antígenos por CTLs $CD8^+$ é restrito por moléculas do MHC de classe I, enquanto as respostas dos linfócitos T $CD4^+$ aos antígenos são restritas por moléculas do MHC de classe II.

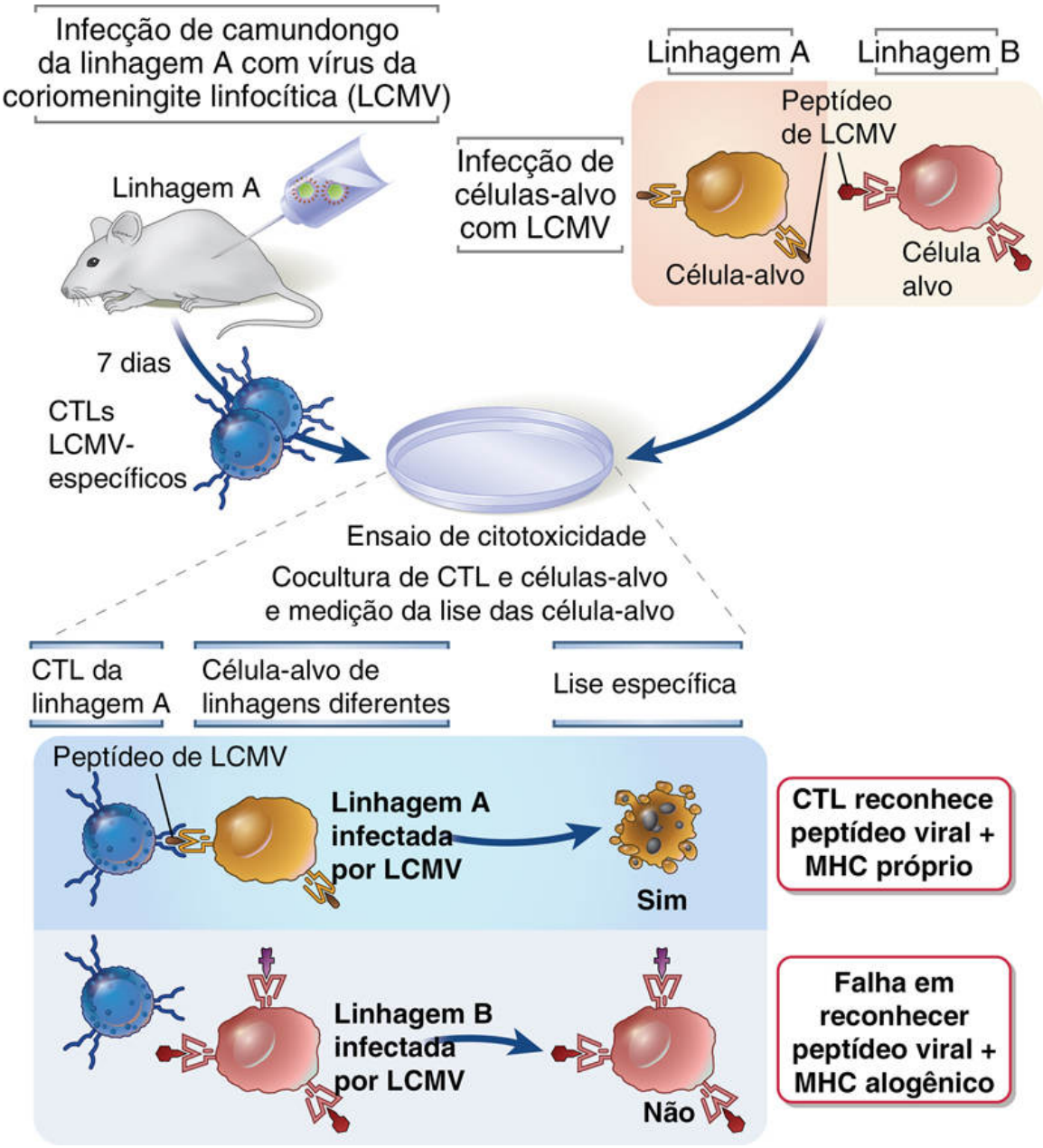


FIGURA 6.5 Demonstração experimental do fenômeno de restrição do MHC de linfócitos T.
CTLs vírus-específicos gerados de camundongos de linhagem A infectados por vírus destroem apenas células-alvo singênicas (linhagem A) infectadas por esse vírus. Os CTLs não destroem alvos da linhagem B infectados (que expressam alelos de MHC diferentes daqueles expressos pela linhagem A). Usando linhagens murinas congênitas que diferem apenas quanto aos *loci* de MHC de classe I, foi comprovado que o reconhecimento de antígenos por CTLs $CD8^+$ é, em si, restrito pelo MHC de classe I.

Continuaremos a nossa discussão sobre o MHC descrevendo as propriedades dos genes e, então, as proteínas. Para concluir, descreveremos como essas proteínas se ligam e exibem os antígenos estranhos.

Genes do MHC

O* locus *do MHC contém dois tipos de genes de MHC polimórficos: os genes de MHC de classe I e de classe II, que codificam dois grupos de proteínas estruturalmente distintas, porém homólogas; e outros genes não polimórficos, cujos produtos estão envolvidos na apresentação de antígenos (Fig. 6.6). Os polimorfismos se referem às variações em um gene entre os indivíduos de uma população não consanguínea. As moléculas do MHC de classes I e II polimórficas são aquelas com função de exibir antígenos peptídicos para o reconhecimento pelas células T $CD8^+$ e $CD4^+$, respectivamente. As moléculas não polimórficas codificadas no MHC não apresentam peptídeos para reconhecimento pela célula T.

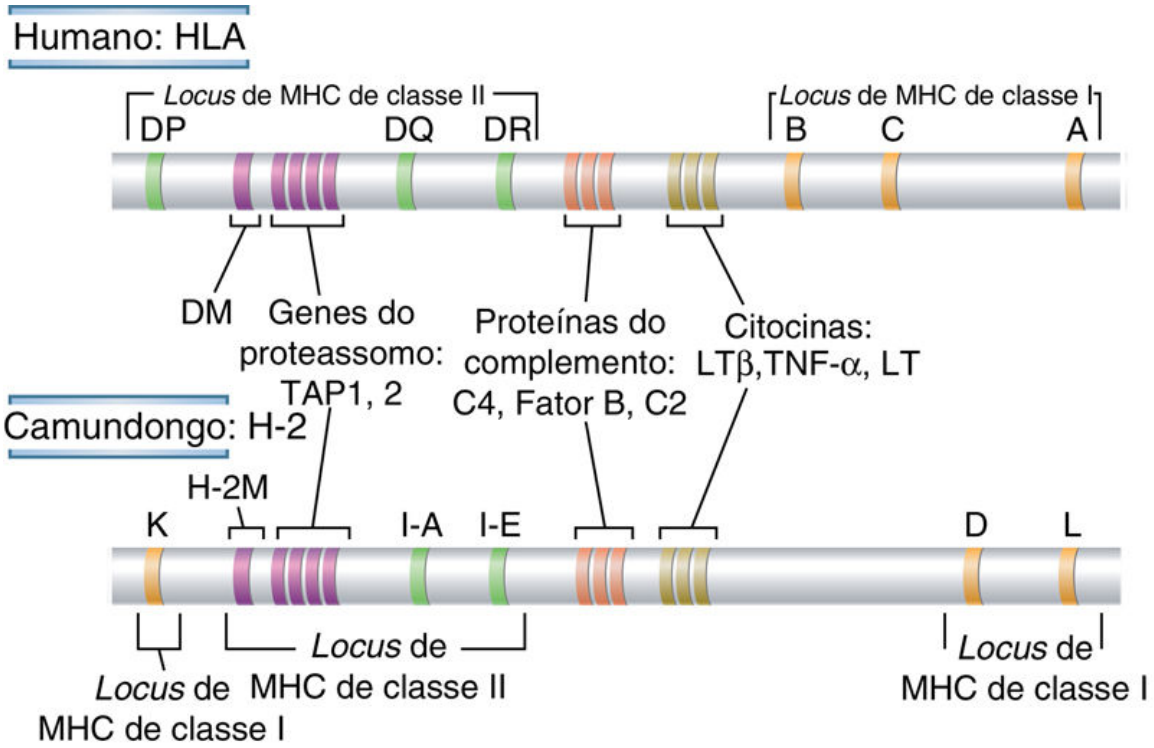


FIGURA 6.6 Mapas esquemáticos dos *loci* do complexo principal de histocompatibilidade humano e murino.
A organização básica dos genes no *locus* do MHC é similar em seres humanos e camundongos. Os tamanhos dos genes e segmentos de DNA interveniente foram omitidos na escala. Os *loci* de classe II são mostrados como blocos únicos, mas cada *locus* consiste em vários genes.

Diferentes moléculas de HLA de classe I humanas foram distinguidas pela primeira vez por meio de abordagens sorológicas (ligação de anticorpos). Diferentes moléculas do MHC de classe II foram identificadas com o uso de ensaios em que células T de um indivíduo seriam ativadas por células de outro indivíduo (na chamada reação linfocitária mista; Capítulo 17). Atualmente, o sequenciamento de DNA é usado para distinguir diferentes alelos de MHC e as proteínas que codificam.

Os genes do MHC de classes I e II são os genes mais polimórficos em qualquer genoma de mamífero. Uma característica notável emergente dos estudos sobre os genes do MHC humano é a inesperada extensão do polimorfismo. Na população, o número total de alelos HLA com diferentes sequências de aminoácidos é estimado em mais de 10.000, com mais de 3.000 variantes apenas para o *locus* HLA-B isolado. As variações nas moléculas do MHC (responsáveis pelo polimorfismo) resultam da herança de sequências de DNA distintas e não são induzidas por recombinação

gênica (como ocorre nos receptores antigênicos; Capítulo 8). Como esses produtos de diferentes alelos do MHC se ligam e exibem diferentes peptídeos, indivíduos distintos de uma mesma população podem apresentar diferentes peptídeos até mesmo de um mesmo antígeno proteico.

É possível que o polimorfismo do MHC tenha evoluído para garantir que as populações humanas fossem capazes de lidar com a diversidade quase ilimitada de microrganismos e, assim, protegidas da perda devastadora de vidas decorrente das infecções emergentes. Em outras palavras, preservando um amplo número de diferentes moléculas do MHC na população, quase sempre haverá alguns indivíduos capazes de apresentar peptídeos de praticamente qualquer microrganismo a suas células T. No entanto, as pressões seletivas que têm preservado esse vasto número de alelos na população são desconhecidas.

Os genes do MHC são expressos de modo codominante em cada indivíduo. Dito de outro modo, para determinado gene do MHC, cada indivíduo expressa os alelos herdados de ambos os pais. Para o indivíduo, isso maximiza o número de moléculas do MHC disponíveis para se ligarem a peptídeos para apresentação às células T.

Loci dos Genes do MHC em Humanos e Camundongos

Em seres humanos, o MHC está localizado no braço curto do cromossomo 6 e ocupa um amplo segmento de DNA, estendendo-se por cerca de 3.500 quilobases (kb). (Para fins de comparação, um gene humano grande pode ter a extensão de até 50-100 kb, e o tamanho do genoma inteiro da bactéria *Escherichia coli* mede cerca de 4.500 kb.) Em termos genéticos clássicos, o *locus* do MHC se estende por cerca de 4 centimorgans, significando que ocorrem permutas (*crossovers*) junto ao MHC em cerca de 4% das meioses. Um mapa molecular do MHC humano é mostrado na Figura. 6.7.

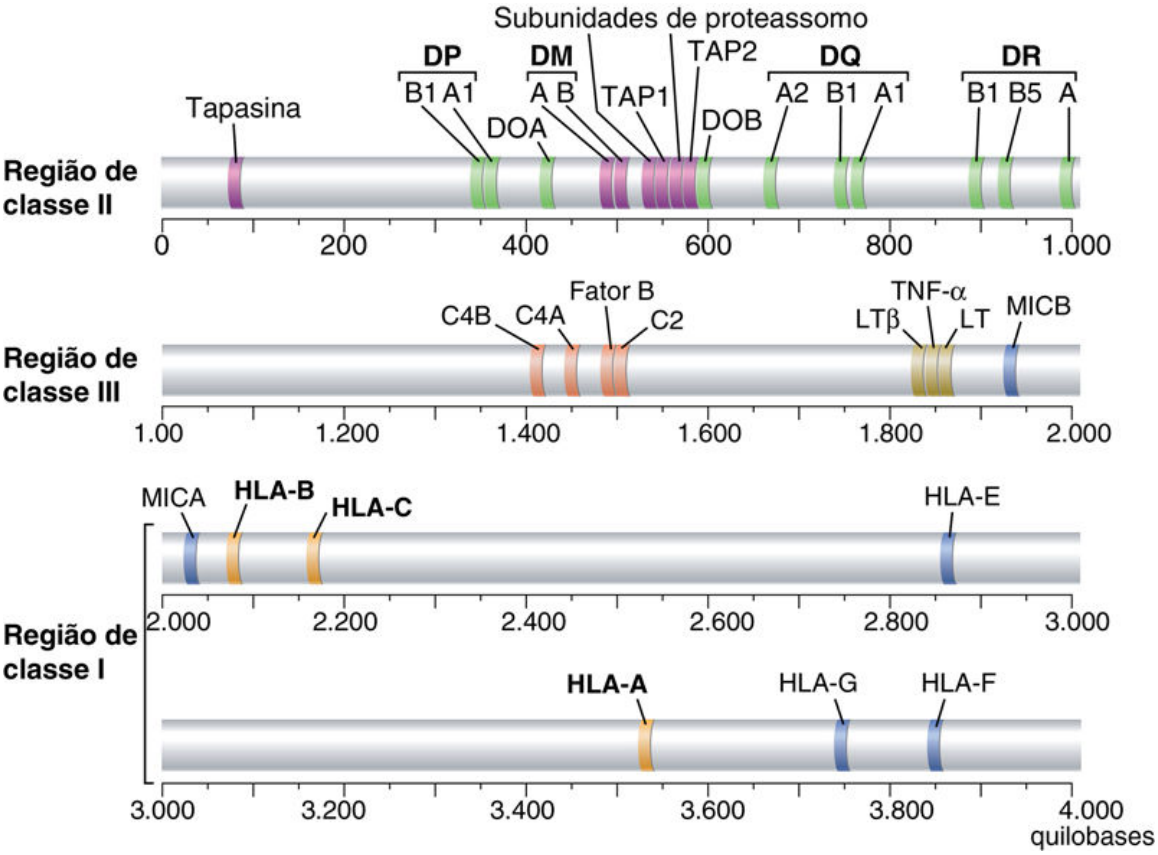


FIGURA 6.7 Mapa do complexo principal de histocompatibilidade humano.
Os genes localizados junto ao *locus* do MHC humano são ilustrados. Além dos genes *MHC* de classes I e II, os genes *HLA-E*, *HLA-F* e *HLA-G*, bem como o gene *MIC* codificam moléculas do tipo classe I, muitas das quais são reconhecidas por células NK. C4, C2 e Fator B são proteínas do complemento; tapasina, DM, DO, TAP e subunidades de proteassomo são proteínas envolvidas no processamento antigênico, discutido adiante neste mesmo capítulo; LTα, LTβ e TNF são citocinas. Muitos pseudogenes e genes cujos papéis nas respostas imunes não estão estabelecidos estão localizados no complexo HLA, mas foram omitidos para fins de simplificação do mapa.

Existem três genes de MHC de classe I, chamados *HLA-A*, *HLA-B* e *HLA-C*, os quais codificam três tipos de moléculas do MHC de classe I com os mesmos nomes. Existem três *loci* genéticos de HLA classe II, chamados *HLA-DP*, *HLA-DQ* e *HLA-DR*. Cada molécula de MHC de classe II é composta por um heterodímero de polipetídeos α e β. Os *locis DP*, *DQ* e *DR* em cada cromossomo contêm genes separados designados *A* e *B*, que codificam as cadeias α e β, respectivamente. Todo indivíduo tem dois genes *HLA-DP* (chamados *DPA1* e *DPB1*), dois genes *HLA-DQα* (*DQA1, 2*),

um gene *HLA-DQβ* (*DQB1*), um gene *HLA-DRα* gene (*DRA1*), e um ou dois genes *HLA-DRβ* (*DRB1* e *DRB3, 4* ou *5*). A nomenclatura do *locus* HLA considera o enorme polimorfismo identificado por métodos sorológicos e moleculares. Dessa forma, com base na moderna tipagem molecular, alelos individuais podem ser chamados *HLA-A*0201*, em referência ao subtipo 01 de *HLA-A2*, de *HLA-DRB1*0401*, em referência ao subtipo 01 do gene *DR4B1*, e assim por diante.

O MHC murino, localizado no cromossomo 17, ocupa cerca de 2.000 kb de DNA, sendo que os genes estão organizados de uma forma um pouco diferente da organização do MHC humano. Um dos genes de classe I murinos (*H-2K*) é centromérico à região de classe II, porém os outros genes de classe I são teloméricos à região de classe II. Existem três genes de MHC classe I murinos chamados *H-2K*, *H-2D* e *H-2L*, codificadores de três proteínas de MHC de classe I diferentes — K, D e L. Esses genes são homólogos aos genes humanos *HLA-A*, *-B* e *-C*. Os alelos do MHC de linhagens consanguíneas particulares de camundongos são designados por letras minúsculas (p. ex.: *a, b*), nomeados de acordo com o conjunto inteiro de genes do MHC na linhagem murina em que foram identificados pela primeira vez. Na terminologia dos geneticistas murinos, o alelo do gene *H-2K* em uma linhagem com MHC tipo k é chamado K^k (pronunciado *K de k*), enquanto o alelo do gene *H-2K* em uma linhagem com MHC tipo d é chamado K^d (pronunciado *K de d*). Uma terminologia similar é usada para os alelos *H-2D* e *H-2L*. Camundongos têm dois *loci* de MHC de classe II chamados *I-A* e *I-E*, os quais codificam as moléculas I-A e I-E, respectivamente. Esses *loci* são os genes *Ir* discutidos anteriormente. Os genes de classe II murinos são homólogos aos genes humanos *HLA-DP*, *DQ* e *DR*. O alelo *I-A* encontrado na linhagem consanguínea murina com os alelos K^k e D^k é chamado $I\text{-}A^k$ (pronunciado *I-A de k*). Uma terminologia similar é usada para o alelo *I-E*. Assim como nos seres humanos, existem na verdade dois genes diferentes, designados *A* e *B*, nos *loci I-A* e *I-E* que codificam as cadeias α e β de cada molécula de MHC de classe II.

O conjunto de alelos do MHC presentes em cada cromossomo é chamado **haplótipo** do MHC. Por exemplo, um haplótipo HLA de um indivíduo poderia ser HLA-A2, B5, DR3, e assim por diante (usando a nomenclatura mais simples para alelos HLA). Todos os indivíduos heterozigotos obviamente possuem dois haplótipos HLA. Camundongos consanguíneos, sendo homozigotos, têm um único haplótipo. Assim, o haplótipo de um camundongo $H\text{-}2^d$ é $H\text{-}2K^d$ $I\text{-}A^d$ $I\text{-}E^d$ D^d L^d. Os genes do MHC estão firmemente ligados, de modo que os haplótipos são herdados

en bloc, e os indivíduos em geral expressarão todos os alelos de MHC nos dois haplótipos herdados de seus pais.

Expressão de Moléculas do MHC

Como as moléculas do MHC são necessárias para a apresentação dos antígenos aos linfócitos T, a expressão dessas proteínas em uma célula determina se antígenos estranhos (p. ex.: microbianos) presentes nessa célula serão reconhecidos pelas células T. Existem várias características importantes da expressão de moléculas do MHC, as quais contribuem para o seu papel na proteção dos indivíduos contra diversas infecções microbianas.

As moléculas de classe I são expressas em praticamente todas as células nucleadas, enquanto as moléculas de classe II são expressas apenas em células dendríticas, linfócitos B, macrófagos, células epiteliais tímicas e em outros poucos tipos celulares. Esse padrão de expressão do MHC está ligado às funções de células T $CD8^+$ classe I-restritas e de células T $CD4^+$ classe II-restritas. Como discutido anteriormente, os CTLs $CD8^+$ matam as células infectadas por microrganismos intracelulares, como vírus, bem como tumores que expressam antígenos tumorais e qualquer célula nucleada que possa abrigar um vírus ou se desenvolver em câncer. Dessa forma, a expressão de moléculas do MHC de classe I em células nucleadas fornece um sistema de exibição para antígenos virais e tumorais, de modo que esses antígenos podem ser reconhecidos pelos CTLs e as células produtoras de antígeno podem ser destruídas. Em contraste, os linfócitos T auxiliares $CD4^+$ classe II-restritos têm um conjunto de funções que requerem o reconhecimento do antígeno apresentado por um número mais limitado de tipos celulares, e as moléculas de classe II são expressas principalmente nestes tipos celulares, pelas razões descritas a seguir. Para iniciar uma resposta imune, as células T $CD4^+$ *naive* precisam reconhecer antígenos que são capturados e apresentados por DCs em órgãos linfoides. Os linfócitos T auxiliares $CD4^+$ diferenciados atuam principalmente ativando (ou auxiliando) macrófagos na eliminação de microrganismos extracelulares fagocitados, e ajudando linfócitos B a produzirem anticorpos que também eliminam microrganismos extracelulares. As células epiteliais tímicas expressam moléculas do MHC de classes I e II, e a apresentação de antígenos por essas células é importante no processo de seleção de linfócitos T em maturação (Capítulo 8).

A expressão de moléculas do MHC é aumentada pelas citocinas produzidas durante as respostas imunes inata e adaptativa. Embora as

moléculas de classe I sejam constitutivamente expressas em células nucleadas, sua expressão é aumentada pelos interferons do tipo I, IFN-α e IFN-β, produzidos durante a resposta imune inata inicial a muitos vírus (Capítulo 4). Portanto, à respostas imunes inatas aos vírus aumentam a expressão de moléculas do MHC que exibem antígenos virais a células T vírus-específicas. Esse é um dos mecanismos pelos quais a imunidade inata estimula respostas imunes adaptativas. A expressão de moléculas do MHC classe I também é aumentada pelo IFN-γ, conforme descrito a seguir.

A expressão de moléculas de classe II é regulada por citocinas e outros sinais em diferentes células. O IFN-γ é a principal citocina envolvida na estimulação da expressão de moléculas de classe II em APCs, como as DCs e os macrófagos (Fig. 6.8). O IFN-γ pode ser produzido pelas células *natural killer* (NK) durante as reações imunes inatas iniciais e também por células T ativadas durante as reações imunes adaptativas tardias. Dessa forma, o IFN-γ também fornece um mecanismo pelo qual a imunidade inata promove a imunidade adaptativa, aumentando a expressão do MHC de classe II nas APCs, e fornece um mecanismo de amplificação na imunidade adaptativa. Como já mencionado, a expressão de moléculas de classe II aumenta em respostas a sinais oriundos dos receptores do tipo *Toll* em resposta a componentes microbianos, promovendo, assim, a exibição de antígenos microbianos — outra ligação entre as imunidades inata e adaptativa. Os linfócitos B expressam constitutivamente moléculas de classe II e podem aumentar essa expressão em resposta ao reconhecimento antigênico e às citocinas produzidas pelas células T auxiliares, intensificando assim a apresentação antigênica para as células auxiliares (Capítulo 12). O IFN-γ pode ainda aumentar a expressão de moléculas do MHC em células endoteliais vasculares e outros tipos celulares não imunes. O papel dessas células na apresentação de antígeno aos linfócitos T é desconhecido, conforme mencionado antes. Algumas células, como os neurônios, parecem jamais expressar moléculas de classe II. Em seguida à ativação, as células T humanas (mas não as murinas) expressam moléculas de classe II, entretanto nenhuma citocina foi identificada nessa resposta, e o significado funcional disso é indeterminado.

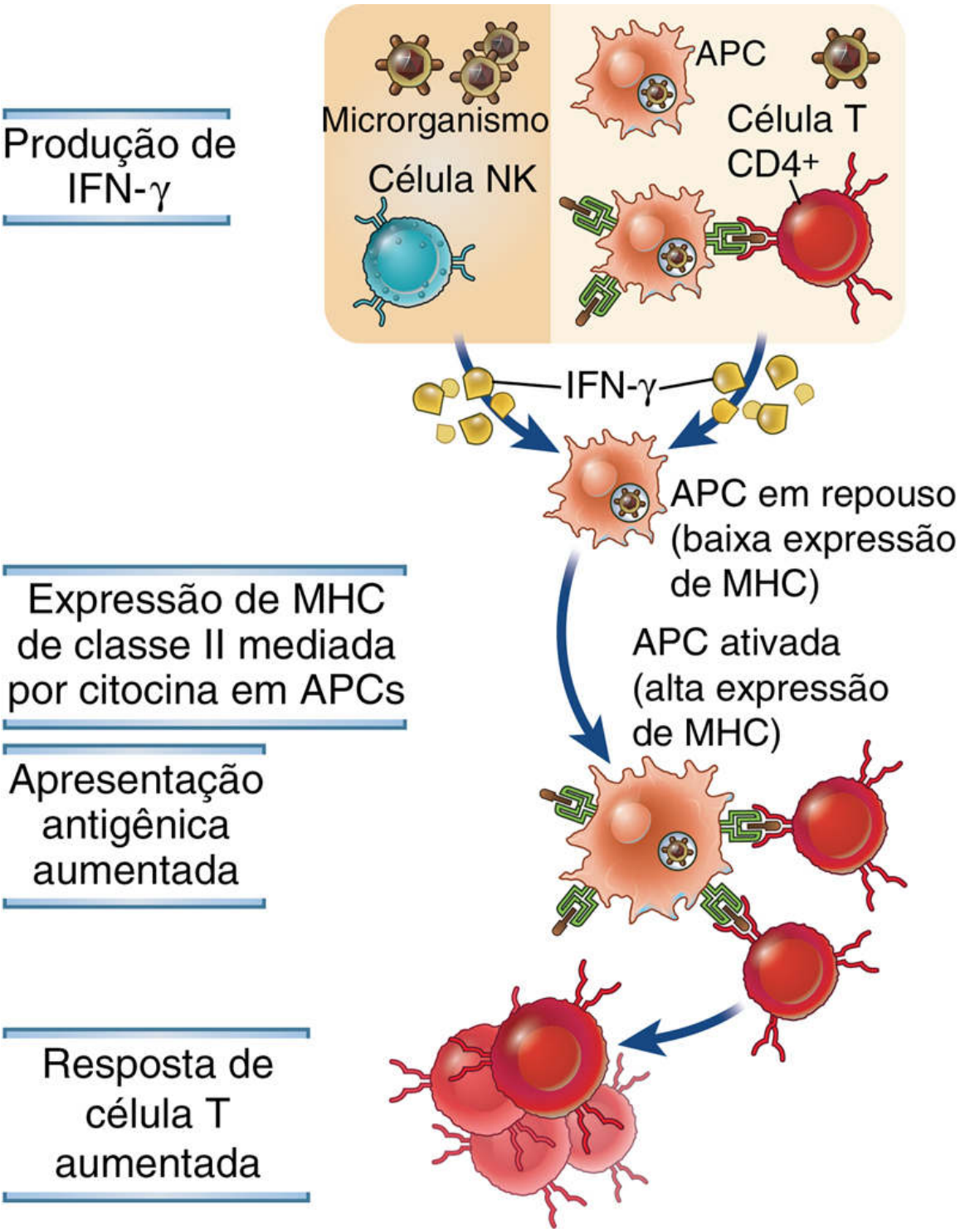


FIGURA 6.8 Aumento da expressão da molécula de MHC de classe II pelo interferon-γ.
O IFN-γ, produzido pelas células NK e outros tipos celulares durante as reações imunes inatas aos microrganismos, ou por células T durante as reações imunes adaptativas, estimula a expressão do MHC de classe II em APCs e, portanto, intensifica a

ativação das células T $CD4^+$. O IFN-γ e os interferons tipo I produzem efeito similar sobre a expressão de moléculas do MHC de classe I e na ativação de células T $CD8^+$. *APC*, célula apresentadora de antígeno; *IFN*, interferon; *MHC*, complexo principal de histocompatibilidade; *NK*, *natural killer*.

A taxa de transcrição é o principal determinante dos níveis de síntese e expressão de moléculas do MHC na superfície celular. As citocinas intensificam a expressão do MHC estimulando a transcrição de genes de classes I e II em uma ampla variedade de tipos celulares. Esses efeitos são mediados pela ligação de fatores de transcrição ativados por citocina a sequências de DNA em regiões promotoras de genes do MHC. Vários fatores de transcrição podem ser montados e se ligarem a uma proteína chamada ativador de transcrição de classe II (CIITA, do inglês, *class II transcription activator*), que é membro da família de receptores do tipo NOD (Capítulo 4). O complexo inteiro, então, liga-se ao promotor de classe II e promove a transcrição eficiente do gene. Mantendo o complexo de fatores de transcrição unido, CIITA atua como um regulador-mestre da expressão gênica de classe II. Mutações em CIITA ou em fatores de transcrição associados foram identificadas como causa de doenças de imunodeficiência humana associadas à expressão defeituosa de moléculas do MHC. Dentre esses distúrbios, o mais bem estudado é a **síndrome do linfócito nu** (Capítulo 21). Camundongos *knockout* sem CIITA também mostram expressão diminuída ou nula de classe II em DCs e linfócitos B, além da incapacidade do IFN-γ de induzir classe II em todos os tipos celulares.

A expressão de muitas proteínas envolvidas no processamento e apresentação do antígeno é regulada de maneira coordenada. Exemplificando, o IFN-γ aumenta a transcrição não só dos genes de classes I e II, mas também de vários genes cujos produtos são requeridos para a montagem do MHC de classe I e exibição do peptídeo, como os genes codificadores do transportador TAP e algumas subunidades de proteassomos, discutidas mais adiante, neste capítulo.

Estrutura das Moléculas do MHC

Estudos bioquímicos sobre moléculas do MHC culminaram na determinação das estruturas cristalinas para as porções extracelulares das moléculas de classes I e II humanas. Subsequentemente, muitas moléculas do MHC com peptídeos ligados foram cristalizadas e analisadas em detalhes. Graças a esses avanços, hoje sabemos como as moléculas do

MHC se ligam e exibem os peptídeos. Nesta seção, primeiro resumiremos as características funcionalmente importantes que são comuns às moléculas do MHC de classes I e II. Em seguida, descreveremos as estruturas das proteínas de classes I e II, apontando suas principais similaridades e diferenças (Tabela 6.3).

Tabela 6.3

Características das Moléculas do MHC de Classe I e Classe II

Característica	MHC de Classe I	MHC de Classe II
Cadeias polipeptídicas	α e β2-microglobulina	α e β
Localizações de resíduos polimórficos	Domínios α1 e α2	Domínios α1 e β1
Sítio de ligação para correceptor de célula T	CD8 se liga principalmente ao domínio α3	CD4 se liga a um bolso criado por partes dos domínios α2 e β2
Tamanho da fenda de ligação do peptídeo	Acomoda peptídeos de 8-11 resíduos	Acomoda peptídeos de 10-30 resíduos ou mais
Nomenclatura		
Humana	HLA-A, HLA-B, HLA-C	HLA-DR, HLA-DQ, HLA-DP
Murina	H-2K, H-2D, H-2L	I-A, I-E

HLA, antígenos leucocitários humanos.

Propriedades Gerais das Moléculas do MHC

Todas as moléculas do MHC compartilham certas características estruturais essenciais ao seu papel na exibição do peptídeo e no reconhecimento do antígeno pelos linfócitos T.

- ***Cada molécula de MHC consiste em uma fenda de ligação ao peptídeo extracelular, seguida de um domínio tipo imunoglobulina (Ig) e de domínios transmembrana e citoplasmático.*** As moléculas de classe I são compostas por uma cadeia polipeptídica codificada no MHC e por uma segunda cadeia não MHC-codificada, enquanto as moléculas de classe II são constituídas por duas cadeias polipeptídicas MHC-codificadas. Apesar dessa diferença, as estruturas tridimensionais gerais das moléculas de classes I e II são similares.

- ***Os resíduos de aminoácidos polimórficos das moléculas do MHC estão localizados na e adjacentes à fenda de ligação ao peptídeo.*** Essa fenda (também chamada sulco) é formada pelo dobramento das porções aminoterminais das proteínas MHC-codificadas, sendo composta por α-hélices pareadas formando as duas paredes da fenda, repousando em um assoalho constituído por uma folha β-pregueada com oito alças. Os resíduos polimórficos, que são os aminoácidos variáveis entre alelos de MHC diferentes, estão localizados no assoalho e nas paredes desta fenda. Esta porção da molécula de MHC se liga aos peptídeos para mostrá-los às células T, e os receptores antigênicos das células T interagem com o peptídeo exibido e também com as α-hélices das moléculas do MHC (Fig. 6.1). Devido à variabilidade dos aminoácidos nessa região, diferentes moléculas do MHC se ligam e exibem diferentes peptídeos, sendo reconhecidas pelos receptores antigênicos de diferentes células T.
- ***Os domínios tipo Ig não polimórficos das moléculas do MHC de classes I e II contêm sítios de ligação para as moléculas CD4 e CD8 da célula T, respectivamente.*** CD4 e CD8 são expressos em subpopulações distintas de linfócitos T maduros, participando junto com os receptores antigênicos, no reconhecimento do antígeno. Por esse motivo, CD4 e CD8 são chamados correceptores da célula T (Capítulo 7). O CD4 se liga seletivamente a moléculas do MHC de classe II, enquanto o CD8 se liga às moléculas de classe I. É por isso que ***as células T auxiliares CD4$^+$ reconhecem moléculas do MHC de classe II exibindo peptídeos, enquanto as células T CD8$^+$ reconhecem moléculas do MHC de classe I com peptídeos ligados.*** Dito de outro modo, as células T CD4$^+$ são restritas ao MHC de classe II e as células T CD8$^+$ são restritas ao MHC de classe I.

Moléculas do MHC de Classe I

As moléculas do MHC de classe I consistem em duas cadeias polipeptídicas unidas por ligação não covalente — uma cadeia α de 44-47 kDa (ou cadeia pesada) MHC-codificada, e uma subunidade de 12 kDa não MHC-codificada chamada β2-microglobulina (Fig. 6.9). Cerca de ¾ do polipeptídeo da cadeia α são extracelulares; um segmento hidrofóbico curto abrange a membrana plasmática, e os resíduos carboxi-terminais estão localizados no citoplasma. Os segmentos aminoterminais α1 e α2 da

cadeia α, cada um dos quais medindo cerca de 90 resíduos, interagem para formar uma plataforma que consiste em uma folha β-pregueada antiparalela com oito alças sustentando duas alças paralelas de α-hélice. Isso forma a fenda de ligação ao peptídeo das moléculas de classe I. Seu tamanho é amplo o bastante (~25 Å × 10 Å × 11 Å) para ligar peptídeos de 8-11 aminoácidos, em uma conformação flexível estendida. As extremidades da fenda de ligação ao peptídeo da classe I são fechadas, de modo a impedir a acomodação de peptídeos maiores. Dessa forma, proteínas globulares nativas precisam ser convertidas em fragmentos que sejam suficientemente pequenos e tenham formato linear estendido para que possam se ligar às moléculas do MHC e, assim, serem reconhecidas pelas células T (descritas posteriormente). Os resíduos polimórficos das moléculas de classe I estão confinados aos domínios α1 e α2, onde contribuem para as variações existentes entre diferentes alelos de classe I na ligação ao peptídeo e no reconhecimento pela célula T (Fig. 6.10). O segmento α3 da cadeia α se dobra em um domínio Ig cuja sequência de aminoácidos é conservada entre todas as moléculas do MHC classe I. Esse segmento contém a maior parte do sítio de ligação para CD8, embora a β2-microglobulina e uma pequena parte da porção C-terminal não polimórfica do domínio α2 também contribuam para a ligação. Na extremidade carboxiterminal do segmento α3, há um trecho de cerca de 25 aminoácidos hidrofóbicos que atravessa a bicamada lipídica da membrana plasmática. Imediatamente em seguida a esse trecho, existem cerca de 30 resíduos localizados no citoplasma, incluindo um grupamento de aminoácidos básicos que interagem com grupos da cabeça fosfolipídica do folheto interno da bicamada lipídica e ancoram a molécula de MHC na membrana plasmática.

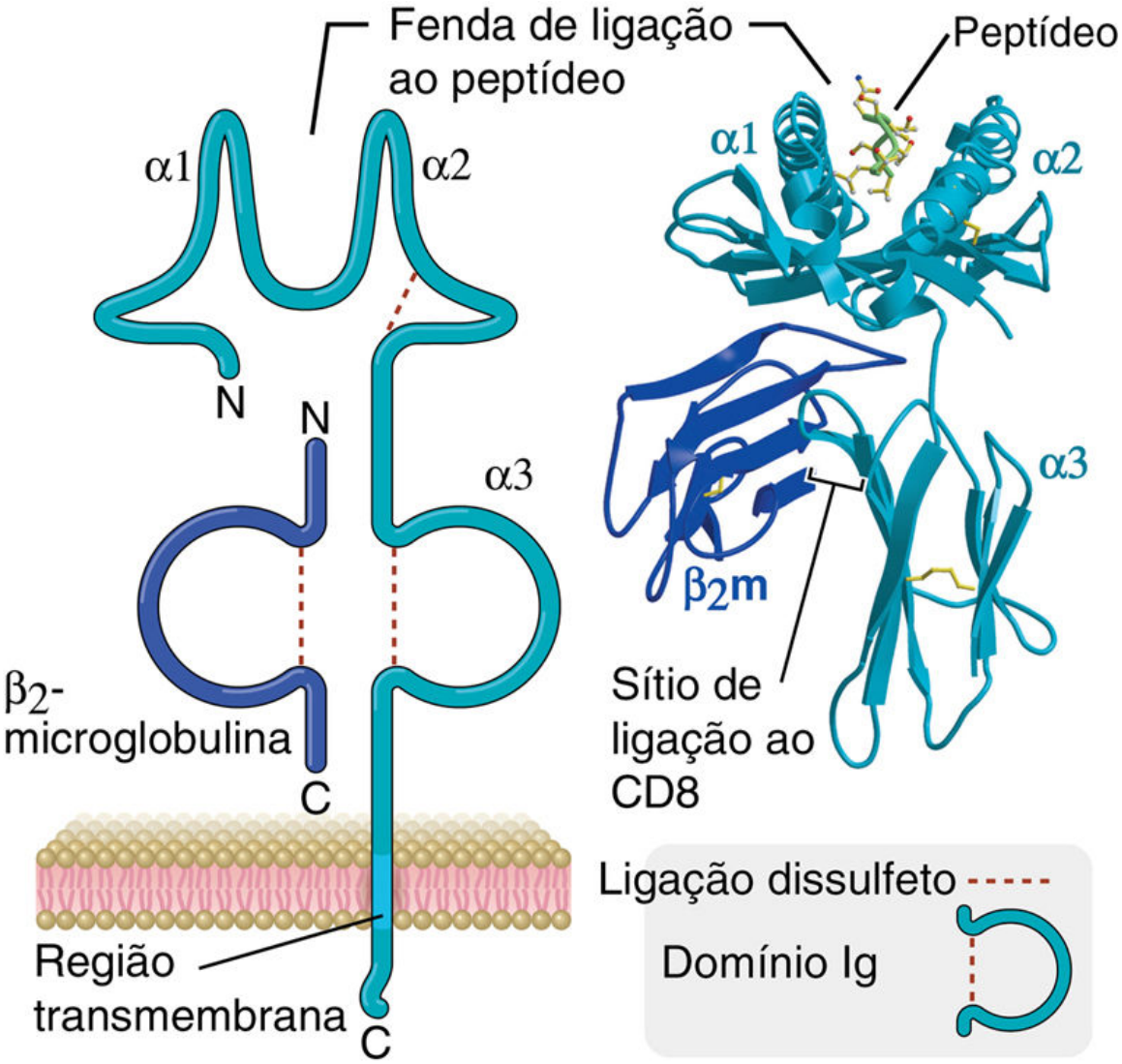


FIGURA 6.9 **Estrutura de uma molécula de MHC de classe I.** Diagrama esquemático *(esquerda)* ilustrando as diferentes regiões da molécula de MHC (omitido na escala). As moléculas de classe I são compostas por uma cadeia α polimórfica ligada de modo não covalente à β_2-microglobulina (β_2m) não polimórfica. A cadeia α é glicosilada; os resíduos de carboidrato foram omitidos. O diagrama de fitas *(direita)* mostra a estrutura da porção extracelular da molécula HLA-B27 com um peptídeo ligado, resolvida por cristalografia de raios X. (Cortesia do Dr. P. Bjorkman, California Institute of Technology, Pasadena.)

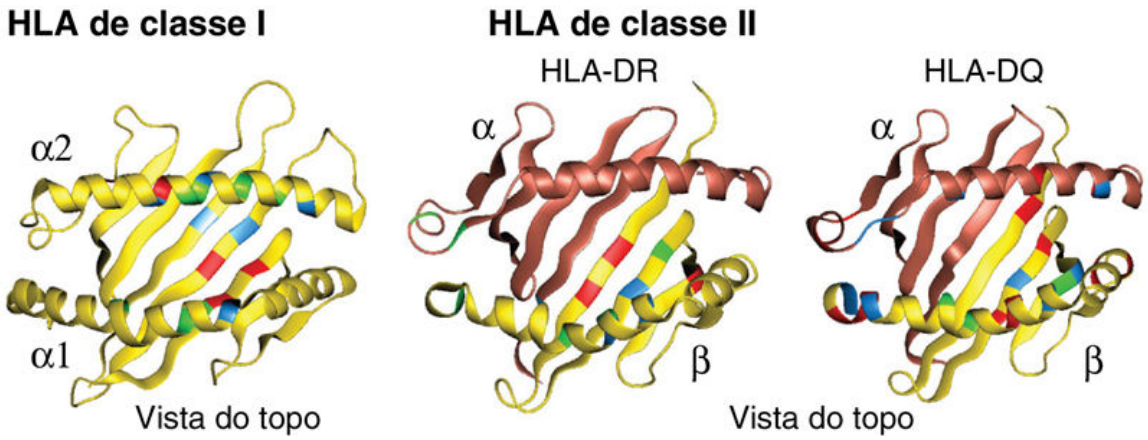


FIGURA 6.10 Resíduos polimórficos das moléculas do MHC. Os resíduos polimórficos das moléculas do MHC de classes I e II estão localizados nas fendas de ligação ao peptídeo e nas α-hélices em torno das fendas. As regiões de maior variabilidade entre os diferentes alelos HLA são indicadas em vermelho; de variabilidade intermediária, em verde; e de menor variabilidade, em azul. (Reproduzido com permissão de Margulies DH, Natarajan K, Rossjohn J, McCluskey J: Major histocompatibility complex [MHC] molecules: structure, function, and genetics. In Paul WE [ed]: *Fundamental immunology*, ed 6, Philadelphia, PA, 2008, Lippincott Williams & Wilkins.)

A β2-microglobulina, a cadeia leve das moléculas de classe I, é codificada por um gene fora do MHC e é nomeada em função de sua mobilidade eletroforética (β2), tamanho (micro) e solubilidade (globulina). Interage de forma não covalente com o domínio $\alpha 3$ da cadeia α. Assim como o segmento $\alpha 3$, a β2-microglobulina é estruturalmente homóloga a um domínio Ig e é invariável entre todas as moléculas de classe I.

A molécula de classe I totalmente montada é um complexo trimérico que consiste em uma cadeia α, β2-microglobulina e um peptídeo ligado. Além disso, a expressão estável das moléculas de classe I nas superfícies celulares requer a presença de todos os três componentes do complexo. A razão para isto é que a interação da cadeia α com a β2-microglobulina é estabilizada pela ligação de antígenos peptídicos à fenda formada pelos segmentos $\alpha 1$ e $\alpha 2$, e, inversamente, a ligação do peptídeo é fortalecida pela interação da β2-microglobulina com a cadeia α. Como os peptídeos são necessários para estabilizar as moléculas do MHC e os complexos instáveis são degradados, somente moléculas do MHC carregadas com peptídeo potencialmente úteis são expressas nas superfícies celulares.

A maioria dos indivíduos são heterozigotos para os genes do MHC e, portanto, expressam seis classes diferentes de moléculas de classe I em

cada célula, contendo cadeias α codificadas pelos dois alelos herdados dos genes *HLA-A*, *B* e *C*.

Moléculas do MHC de Classes II

As moléculas do MHC de classe II são compostas por duas cadeias polipeptídicas associadas de modo não covalente, uma cadeia α de 32-34 kDa e uma cadeia β de 29-32 kDa (Fig. 6.11). Diferentemente do que ocorre com as moléculas de classe I, os genes codificadores de ambas as cadeias das moléculas de classe II são polimórficos e estão localizados no *locus* do MHC.

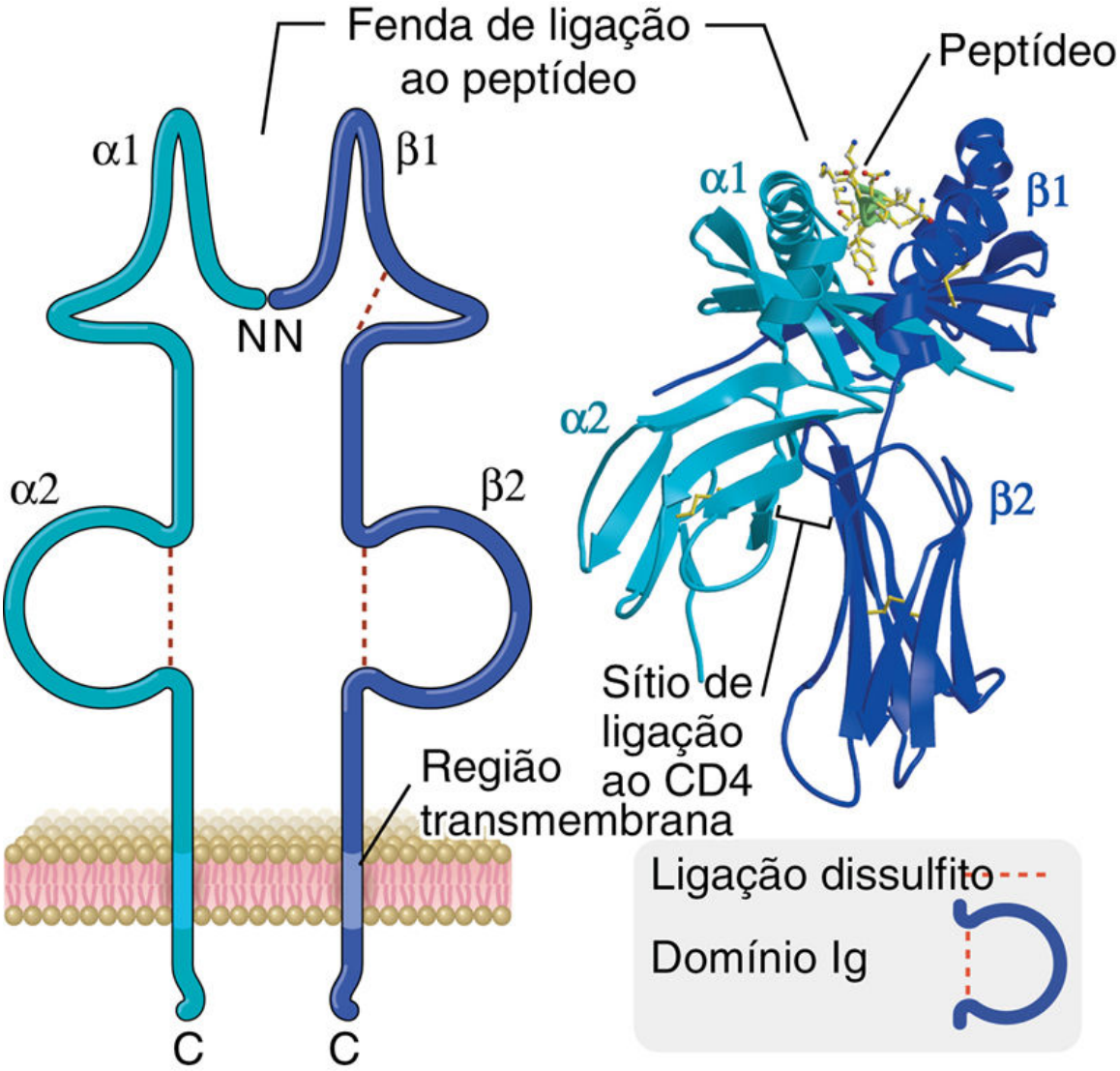


FIGURA 6.11 **Estrutura de uma molécula de MHC de classe II.** Diagrama esquemático *(esquerda)* ilustrando as diferentes regiões da molécula de MHC (omitido na escala). As moléculas de classe II são compostas por uma cadeia α polimórfica ligada de forma não covalente a uma cadeia β. Ambas as cadeias são glicosiladas; os resíduos de carboidrato foram omitidos. O diagrama de fitas *(direita)* mostra a estrutura da porção extracelular da molécula de HLA-DR1 com um peptídeo ligado, resolvida por cristalografia de raios X. (Cortesia do Dr. P. Bjorkman, California Institute of Technology, Pasadena.)

Os segmentos aminoterminais $\alpha 1$ e $\beta 1$ das cadeias de classe II interagem para formar a fenda de ligação ao peptídeo, a qual é estruturalmente similar à fenda das moléculas de classe I. Quatro alças do assoalho da fenda e uma das paredes α-helicoidais são formadas pelo segmento $\alpha 1$,

enquanto as outras quatro alças do assoalho e a segunda parede são formadas pelo segmento β1. Os resíduos polimórficos estão localizados nos segmentos α1 e β1, dentro e ao redor da fenda de ligação ao peptídeo, como nas moléculas do MHC de classe I (Fig. 6.10). Nas moléculas de classe II humanas, a maior parte do polimorfismo está na cadeia β. As extremidades da fenda de ligação ao peptídeo das moléculas do MHC de classe II são abertas, por isso peptídeos contendo 30 resíduos ou mais podem se ligar.

Os segmentos α2 e β2 das moléculas do MHC de classe II, como α3 e β2-microglobulina da molécula de classe I, são dobradas em domínios Ig e são não polimórficos — ou seja, não variam entre os alelos de um gene de classe II em particular. Ambos os domínios, α2 e β2, das moléculas de classe II, contribuem para uma concavidade que acomoda uma protrusão da proteína CD4, permitindo assim que a ligação ocorra. As extremidades carboxiterminais dos segmentos α2 e β2 continuam na forma de regiões conectoras curtas, seguidas por extensões contendo cerca de 25 resíduos de aminoácidos hidrofóbicos transmembrana. Em ambas as cadeias, as regiões transmembrana terminam em grupamentos de resíduos de aminoácidos básicos, seguidos de caudas citoplasmáticas hidrofílicas curtas.

A molécula de MHC de classe II totalmente montada é um trímero, consistindo em uma cadeia α, uma cadeia β e um peptídeo antigênico ligado. A expressão estável da molécula de classe II nas superfícies celulares requer a presença de todos os três componentes do complexo. Assim como nas moléculas de classe I, isso garante que as moléculas do MHC que terminam na superfície celular sejam moléculas que estejam desempenhando sua função normal de exibição antigênica.

Os seres humanos herdam, de cada um dos pais, um gene *DPA* e um gene *DPB* que codificam, respectivamente, as cadeias α e β da molécula HLA-DP; um gene *DQA* e um gene *DQB* funcionais; um gene *DRA* e um ou dois genes *DRB* funcionais. Portanto, cada indivíduo heterozigoto expressa seis a oito pares de moléculas de cadeias α e β do MHC de classe II, um conjunto de cada de *DP* e *DQ*, e um ou dois de *DR*. Tipicamente, não há muito pareamento de proteínas do MHC de *loci* diferentes (i.e., DRα com DQβ e assim por diante), e cada haplótipo tende a ser herdado como uma unidade única. Entretanto, como alguns haplótipos contêm *loci* DRB extra produtores de cadeias β que são montadas com DRα, e algumas moléculas DQα codificadas em um cromossomo podem se associar a moléculas DQβ produzidas a partir do outro cromossomo, o número total

de moléculas de classe II expressas nas células de alguns indivíduos pode ser maior que oito.

Ligação de Peptídeos a Moléculas do MHC

Em seguida à demonstração de que a imunogenicidade das proteínas depende da habilidade de seus peptídeos serem exibidos pelas moléculas do MHC, esforços consideráveis foram empreendidos no sentido de elucidar as bases moleculares das interações peptídeo-MHC e as características dos peptídeos que lhes permitem se ligar às moléculas do MHC. Esses estudos inicialmente contaram com ensaios funcionais de células T auxiliares e CTLs respondendo a APCs incubadas com diferentes peptídeos. A ligação direta de moléculas do MHC e peptídeos foi estudada com moléculas do MHC purificadas e peptídeos marcados com isótopos radioativos ou fluorescência em solução, empregando métodos como diálise de equilíbrio e filtração em gel. A análise cristalográfica por raios X dos complexos peptídeo-MHC forneceu informação definitiva sobre como os peptídeos se assentam nas fendas das moléculas do MHC, e também sobre os resíduos de cada molécula que participam nesta ligação. Esta informação foi usada para gerar algoritmos computadorizados capazes de prever os peptídeos de qualquer proteína mais propensos a se ligar às moléculas do MHC. Na próxima seção, resumimos as principais características das interações entre peptídeos e moléculas do MHC de classes I e II.

Características das Interações Peptídeo-Molécula de MHC

As moléculas do MHC apresentam ampla especificidade para ligação peptídica, contrastando com a especificidade fina do reconhecimento antigênico pelos receptores antigênicos dos linfócitos. Em outras palavras, um único alelo do MHC (p. ex.: HLA-A2) pode apresentar qualquer um dentre muitos peptídeos diferentes para as células T, contudo uma única célula T reconhecerá apenas um desses numerosos complexos HLA-A2/peptídeo possíveis. As interações de moléculas do MHC e peptídeos antigênicos apresentam muitas características importantes.

- ***Cada molécula de MHC de classes I ou II tem uma única fenda de ligação ao peptídeo que liga somente um peptídeo de cada vez, entretanto cada molécula de MHC pode se ligar a muitos***

peptídeos diferentes. Uma das primeiras linhas de evidência a sustentar esta conclusão foi o resultado experimental de que peptídeos distintos que ligam a mesma molécula de MHC podem inibir de modo competitivo a apresentação de outro, implicando a existência de uma única fenda de ligação ao peptídeo em cada molécula de MHC. A solução das estruturas de cristal de moléculas do MHC de classes I e II confirmou a presença de uma única fenda de ligação ao peptídeo nessas moléculas (Figs. 6.9 e 6.11). Não surpreende que uma única molécula de MHC consiga ligar múltiplos peptídeos, uma vez que cada indivíduo contém apenas algumas moléculas do MHC diferentes (seis moléculas de classe I e cerca de oito ou mais moléculas de classe II em um indivíduo heterozigoto), e estas devem ser capazes de apresentar peptídeos a partir do enorme número de antígenos proteicos que provavelmente serão encontrados.

- ***Os peptídeos que se ligam a moléculas do MHC compartilham características estruturais que promovem esta interação.*** Uma dessas características é o tamanho do peptídeo — as moléculas de classe I podem acomodar peptídeos com 8-11 resíduos de comprimento, enquanto as moléculas de classe II se ligam a peptídeos que podem ter 10-30 resíduos ou mais de comprimento, sendo o comprimento ideal de 12-16 resíduos. Além disso, os peptídeos que se ligam a uma molécula de MHC em particular contêm resíduos de aminoácidos que permitem interações complementares entre o peptídeo e a molécula de MHC. Alguns resíduos de aminoácidos promotores da ligação às moléculas do MHC são descritos adiante, na discussão das bases estruturais das interações peptídeo-MHC. Os resíduos de um peptídeo que se ligam às moléculas do MHC diferem daqueles que são reconhecidos pelas células T.
- ***As moléculas do MHC adquirem sua carga de peptídeo durante sua biossíntese e montagem dentro das células.*** Portanto, as moléculas do MHC exibem peptídeos derivados de antígenos microbianos que estão dentro das células do hospedeiro, e é por isso que as células T MHC-restritas são capazes de reconhecer microrganismos que infectam ou estão ingeridos dentro das células. É importante notar que as moléculas do MHC de classe I adquirem os peptídeos a partir de proteínas citosólicas que são digeridas em peptídeos por um complexo enzimático citosólico, enquanto as moléculas do MHC de classe II adquirem os

peptídeos a partir de proteínas extracelulares que são ingeridas e digeridas em vesículas endocíticas. Os mecanismos e a significância desses processos são discutidos mais adiante, neste capítulo.

- ***A associação de peptídeos e moléculas do MHC é uma interação saturável com uma taxa de dissociação bastante lenta.*** Em uma célula, várias chaperonas e enzimas facilitam a ligação dos peptídeos às moléculas do MHC (descritas adiante). Uma vez formados, os complexos peptídeo-MHC, em sua maioria, são estáveis e as constantes de dissociação cinética são indicativas de meias-vidas longas que variam de horas a muitos dias. Essa taxa de dissociação extraordinariamente lenta das moléculas do MHC garante que a molécula de MHC, após adquirir um peptídeo, exiba esse peptídeo durante um tempo longo o suficiente para maximizar a probabilidade de que uma célula T em particular venha a encontrar o peptídeo que é capaz de reconhecer e, então, inicie uma resposta.
- ***Números muito pequenos de complexos peptídeo-MHC conseguem ativar linfócitos T específicos.*** Como as APCs continuamente apresentam peptídeos derivados de todas as proteínas que encontram, apenas uma fração muito pequena de complexos peptídeo-MHC na superfície celular irá conter o mesmo peptídeo. Estima-se que apenas 100 complexos de um peptídeo particular com uma molécula de MHC de classe II na superfície de uma APC possam iniciar uma resposta de célula T específica. Isso representa menos de 0,1% do número total de moléculas de classe II provavelmente presentes na superfície da APC.
- ***As moléculas do MHC de um indivíduo podem se ligar e exibir peptídeos estranhos (p. ex.: aqueles derivados de proteínas microbianas), bem como peptídeos derivados das proteínas desse indivíduo (autoantígenos).*** De fato, a maioria dos peptídeos que são exibidos normalmente pelas APCs derivam de proteínas próprias. A incapacidade das moléculas do MHC de discriminar entre peptídeos próprios e estranhos levanta a questão: "Por que nós normalmente não desenvolvemos respostas imunes contra as proteínas próprias?". A resposta é que os complexos de autopeptídeo-MHC não induzem autoimunidade porque as células T específicas para esses complexos são destruídas ou inativadas. De fato, as células T com receptores para autoantígenos devem reconhecer autopeptídeos exibidos por moléculas do MHC

próprias, para então serem eliminadas ou tornadas irresponsivas. Esses processos garantem que as células T sejam normalmente tolerantes aos autoantígenos (Capítulos 15).

Bases Estruturais da Ligação de Peptídeo a Moléculas do MHC

A ligação de peptídeos a moléculas do MHC é uma interação não covalente mediada por resíduos presentes tanto nos peptídeos como nas fendas das moléculas do MHC. Conforme discutiremos mais tarde, os antígenos proteicos são proteoliticamente clivados nas APCs para gerar os peptídeos que se ligarão e serão exibidos pelas moléculas do MHC. Esses peptídeos se ligam às fendas das moléculas do MHC em uma conformação estendida. Uma vez ligados, os peptídeos e as moléculas de água associadas preenchem as fendas, estabelecendo extensivos contatos com os resíduos de aminoácidos que formam as alças β do assoalho e as α-hélices das paredes da fenda (Fig. 6.12).

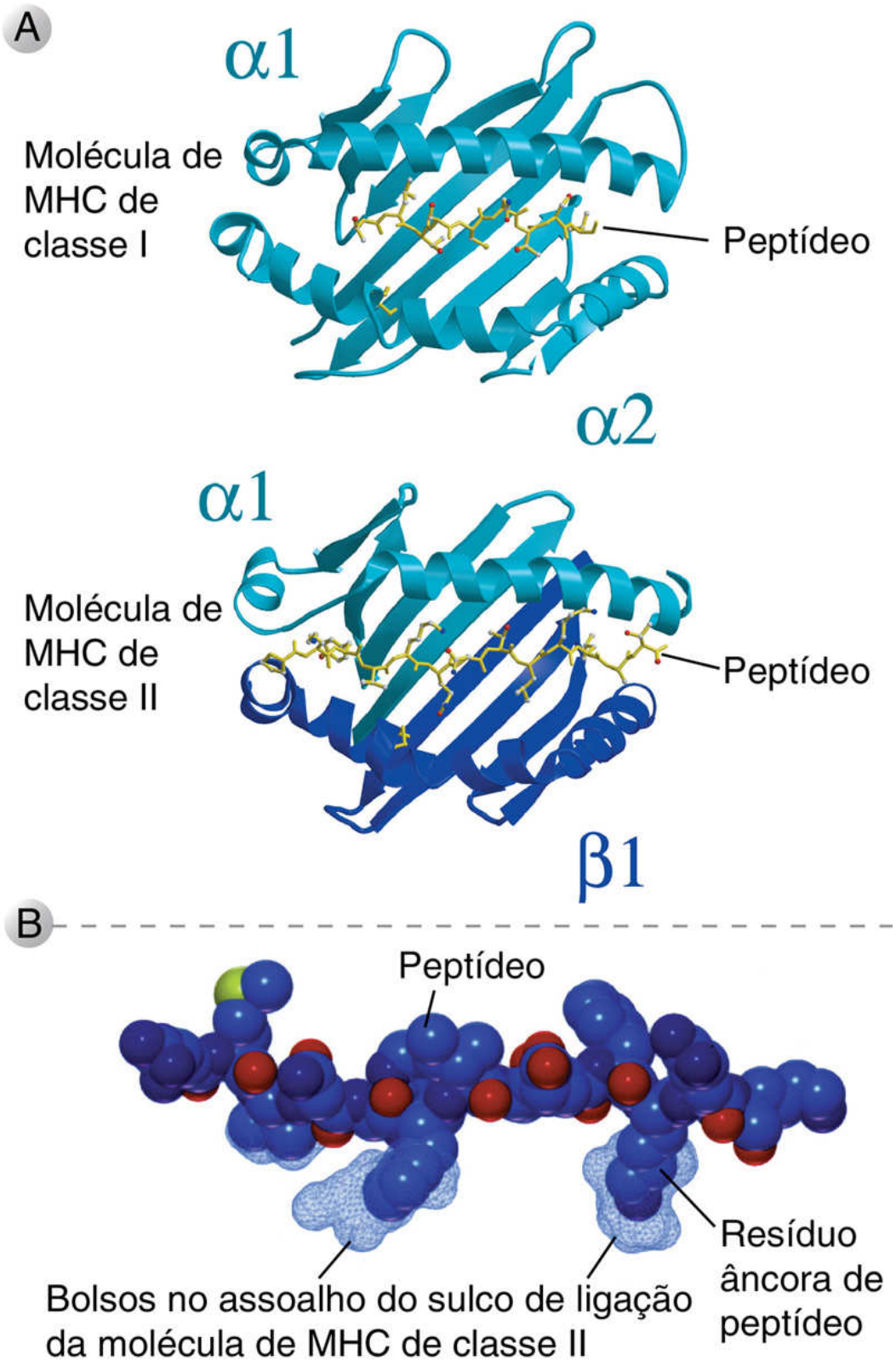


FIGURA 6.12 Ligação do peptídeo a moléculas do MHC.
A, Estas vistas de topo de estruturas cristalinas de moléculas do MHC mostram como os peptídeos repousam nas fendas de ligação

ao peptídeo. A molécula de classe I mostrada é HLA-A2, e a molécula de classe II é HLA-DR1. A fenda da molécula de classe I é fechada, enquanto a da molécula de classe II está aberta. Como resultado, as moléculas de classe II acomodam peptídeos maiores do que as moléculas de classe I. **B,** Vista lateral a partir de um corte de um peptídeo ligado a uma molécula de MHC de classe II, mostrando como resíduos âncora do peptídeo o prendem nos bolsos na fenda da molécula de MHC. (**A,** Cortesia do Dr. P. Bjorkman, California Institute of Technology, Pasadena, California. **B,** De Scott CA, Peterson PA, Teyton L, Wilson IA: Crystal structures of two I-A^d–peptide complexes reveal that high affinity can be achieved without large anchor residues. *Immunity* 8:319–329, 1998. Copyright © 1998, com permissão da Elsevier Science.)

Na maioria das moléculas do MHC, as alças β no assoalho da fenda contêm bolsos onde os resíduos de peptídeos se ligam. Muitas moléculas de classe I têm um bolso hidrofóbico que reconhece um dos seguintes aminoácidos hidrofóbicos — valina, isoleucina, leucina ou metionina — em uma extremidade C-terminal do peptídeo. Algumas moléculas de classe I têm predileção por peptídeos com um resíduo básico (lisina ou arginina) no C-terminal. Adicionalmente, outros resíduos de aminoácidos de um peptídeo podem conter cadeias laterais que se ajustam ao interior de bolsos específicos e se ligam a aminoácidos complementares na molécula de MHC através de interações eletrostáticas (pontes de sal), ligações de hidrogênio ou forças de van der Waals. Esses resíduos de peptídeo são chamados resíduos âncora, porque contribuem principalmente para a ligação — ou ancoragem — do peptídeo à fenda da molécula de MHC. Cada peptídeo ligante de MHC em geral contém apenas um ou dois resíduos âncora, e isso provavelmente proporciona maior variabilidade nos outros resíduos do peptídeo, que são os resíduos reconhecidos por células T específicas. No caso de alguns peptídeos que se ligam a moléculas do MHC, em especial a moléculas de classe II, interações específicas de peptídeos com as laterais α-helicoidais da fenda do MHC também contribuem para a ligação do peptídeo via formação de ligações de hidrogênio ou interações de carga. As moléculas do MHC de classe II acomodam peptídeos maiores do que as moléculas do MHC de classe I. Esses peptídeos mais longos se estendem em uma extremidade ou outra, para além do assoalho da fenda.

Como muitos dos resíduos dentro e ao redor da fenda de ligação ao peptídeo nas moléculas do MHC são polimórficos (i.e., diferem entre os vários alelos do MHC), alelos distintos favorecem a ligação de peptídeos diferentes. Essa é a base estrutural para a função dos genes do MHC como

genes de resposta imune; apenas indivíduos cujas moléculas do MHC podem se ligar a um peptídeo particular e exibí-lo às células T conseguem responder a esse peptídeo.

Os receptores antigênicos das células T reconhecem ambos, peptídeo antigênico e moléculas do MHC, sendo o peptídeo responsável pela especificidade fina do reconhecimento antigênico e os resíduos de MHC respondendo pela restrição das células T ao MHC. Uma parte do peptídeo ligado é exposta a partir da abertura superior da fenda da molécula de MHC, e as cadeias laterais de aminoácidos desta porção do peptídeo são reconhecidas pelos receptores antigênicos das células T específicas. O mesmo receptor da célula T também interage com resíduos polimórficos das α-hélices da própria molécula de MHC (Fig. 6.1). De maneira previsível, variações no antígeno peptídico ou na fenda de ligação ao peptídeo da molécula de MHC irão alterar a apresentação do peptídeo ou seu reconhecimento pelas células T. De fato, é possível aumentar a imunogenicidade de um peptídeo incorporando a este um resíduo que fortaleça sua ligação às moléculas do MHC comumente herdadas em uma população.

Como as moléculas do MHC podem se ligar somente a peptídeos, contudo a maioria dos antígenos são proteínas grandes, é necessário haver um mecanismo pelo qual essas proteínas sejam quebradas em peptídeos capazes de se ligar às moléculas do MHC. O mecanismo é chamado **processamento antigênico** e será o foco do restante do capítulo.

Processamento de Antígenos Proteicos

As vias de processamento antigênico convertem antígenos proteicos presentes no citosol ou internalizados a partir do ambiente extracelular em peptídeos, e carregam esses peptídeos em moléculas do MHC para exibição aos linfócitos T (Fig. 6.13). Os mecanismos de processamento antigênico são destinados a gerar peptídeos com as características estruturais requeridas para associação com moléculas do MHC, bem como a colocar esses peptídeos na mesma localização celular que as proteínas de MHC recém-sintetizadas contendo fendas de ligação ao peptídeo disponíveis. A ligação do peptídeo às moléculas do MHC ocorre antes da expressão na superfície celular e é um componente integral da biossíntese e montagem das moléculas do MHC. De fato, como mencionado antes, a associação ao peptídeo é requerida para estabilizar a montagem e a expressão das moléculas do MHC de classes I e II na superfície.

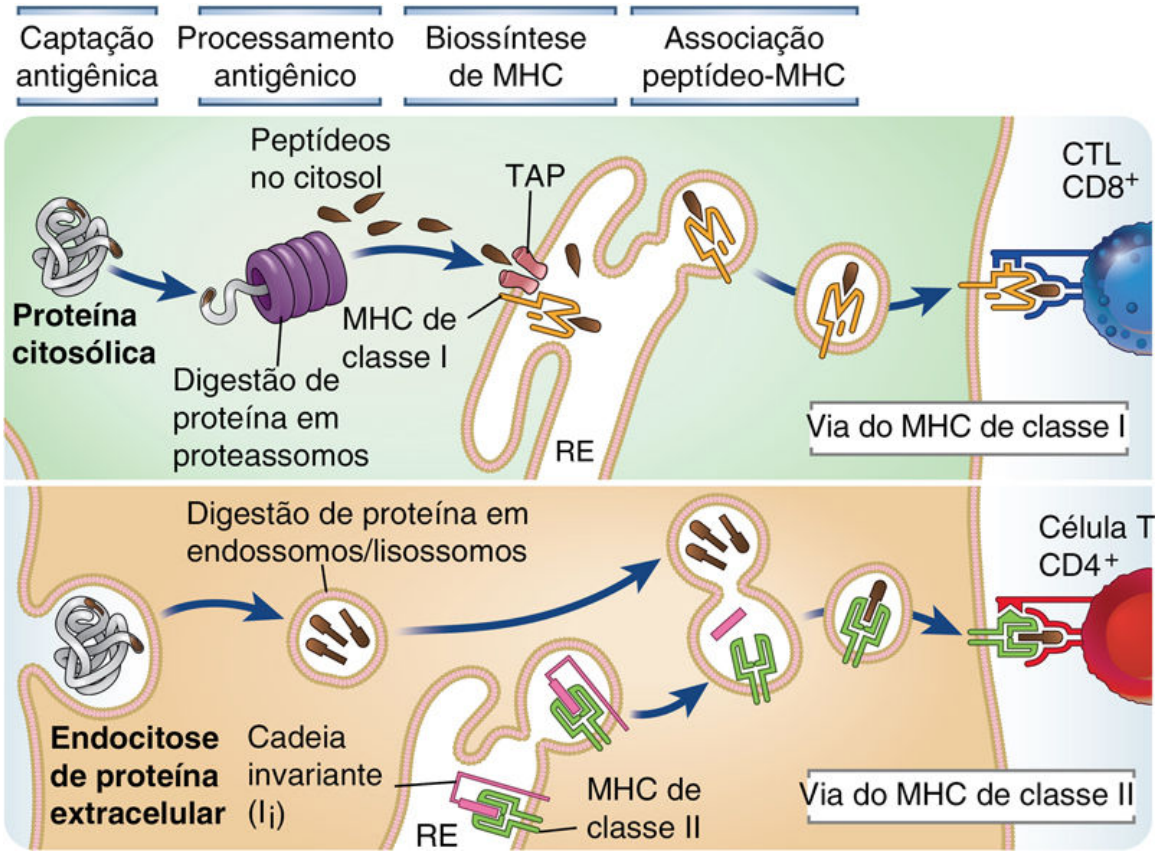


FIGURA 6.13 Vias de processamento e apresentação antigênica.
Na via do MHC de classe I *(painel superior)*, os antígenos proteicos no citosol são processados pelos proteassomos, e os peptídeos são transportados para o interior do retículo endoplasmático (RE), onde se ligam a moléculas do MHC de classe I. Na via do MHC de classe II *(painel inferior)*, os antígenos proteicos degradados nos lisossomos se ligam a moléculas do MHC de classe II. Os detalhes dessas vias de processamento são mostrados nas Figuras. 6.14 e 6.15. *RE*, retículo endoplasmático; *TAP,* transportador associado ao processamento antigênico.

As proteínas presentes no citosol são degradadas pelos proteassomos, para produzir peptídeos que são exibidos em moléculas do MHC de classe I, enquanto as proteínas ingeridas a partir do meio extracelular e aprisionadas em vesículas são degradadas em lisossomos (ou endossomos tardios), para gerar peptídeos que são apresentados em moléculas do MHC de classe II (Fig. 6.13 e Tabela 6.4). Dessa forma, o sítio de proteólise é o principal determinante de quais moléculas do MHC, de classe I ou de classe II, os peptídeos gerados irão ligar. Conforme discutimos, a função dos CTLs $CD8^+$ é matar células que produzem antígenos estranhos no

citosol, enquanto a função das células T $CD4^+$ é ativar macrófagos e células B, que podem ter ingerido microrganismos e antígenos proteicos. As vias de processamento antigênico exercem papel decisivo na determinação dos tipos de microrganismos e antígenos proteicos aos quais essas classes de células T reconhecem e respondem. Descrevemos primeiro essas duas vias de processamento antigênico e, em seguida, sua importância funcional.

Tabela 6.4

Características Comparativas das Vias de MHC de Classe I e Classe II de Processamento e Apresentação Antigênica

Característica	Via de MHC de Classe I	Via de MHC de Classe II
Composição estável do complexo peptídeo-MHC	Cadeia α polimórfica, β_2-microglobulina, peptídeo	Cadeias α e β polimórficas, peptídeo
Tipos de APCs	Todas as células nucleadas	Células dendríticas, fagócitos mononucleares, linfócitos B, células endoteliais, epitélio tímico
Células T responsivas	Células T $CD8^+$	Células T $CD4^+$
Sítio de degradação antigênica	Proteassomo	Endossomos tardios e lisossomos
Fonte de antígenos proteicos	Principalmente proteínas citosólicas (em geral, sintetizadas na célula; podem entrar no citosol a partir dos fagossomos); também, proteínas nucleares e de membrana	Proteínas endossômicas e lisossômicas (na maioria internalizada a partir do ambiente extracelular)
Enzimas responsáveis pela degradação proteica	Subunidades $\beta1$, $\beta2$ e $\beta5$ de proteassomos	Proteases endossômicas e lisossômicas (p. ex.: catepsinas)

Característica	Via de MHC de Classe I	Via de MHC de Classe II
Sítio de carregamento do peptídeo no MHC	Retículo endoplasmático	Endossomos tardios/lisossomos
Moléculas envolvidas no transporte de peptídeos e carregamento de moléculas do MHC	TAP no RE	Cadeia invariante no RE, Golgi; DM

APC, célula apresentadora de antígeno; *RE*, retículo endoplasmático; *MHC*, complexo de histocompatibilidade principal; *TAP,* transportador associado ao processamento antigênico.

A Via do MHC de Classe I para Processamento e Apresentação de Proteínas Citosólicas

A sequência de eventos na apresentação antigênica em moléculas do MHC de classe I é ilustrada na Figura. 6.14, e as etapas individuais são descritas a seguir.

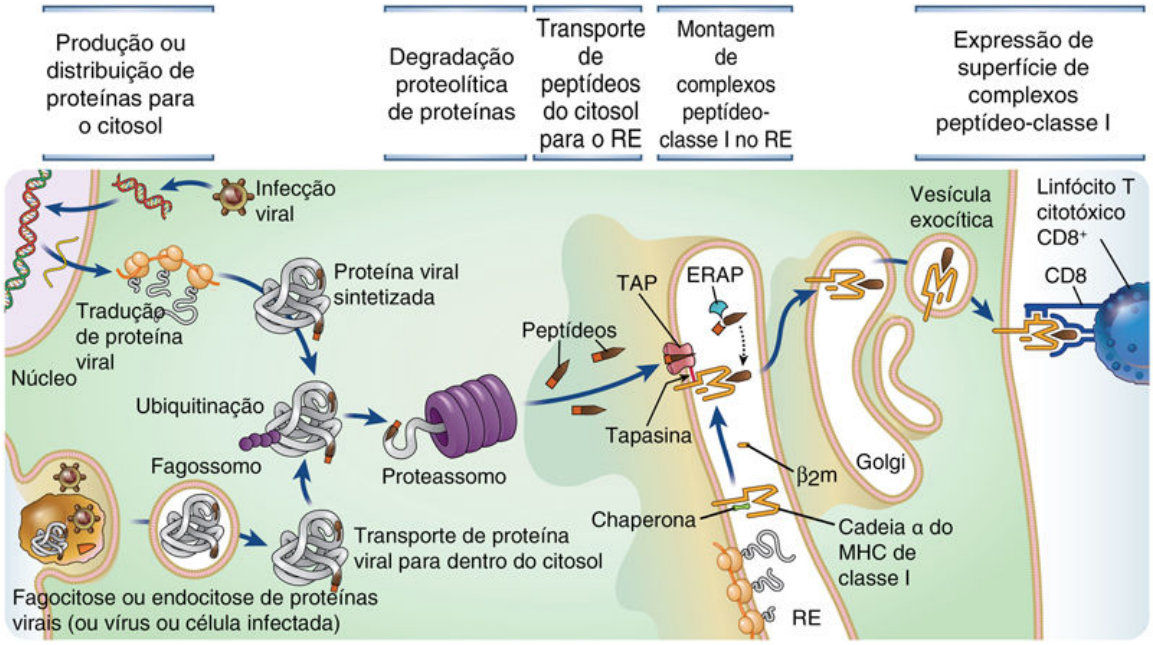


FIGURA 6.14 Via do MHC de classe I de apresentação antigênica.
As etapas do processamento de proteínas citosólicas são descritas no texto. Esta figura representa a proteólise proteassômica de uma proteína sintetizada no interior da célula ou que é ingerida em um fagossomo e então transportada para o citosol. A apresentação de proteínas ingeridas por moléculas do MHC de classe I constitui a base da apresentação cruzada descrita adiante, neste capítulo (Fig. 6.17). *ERAP*, peptidase associada ao retículo endoplasmático; *RE*, retículo endoplasmático; *β2m*, β2-microglobulina; *TAP*, transportador associado ao processamento antigênico; *Ub*, ubiquitina.

Fontes de Antígenos Proteicos Degradados em Proteassomos

As proteínas microbianas presentes no citosol que sofrem degradação proteassômica derivam de microrganismos (tipicamente vírus) que se replicam e sobrevivem no citosol das células, bactérias extracelulares que injetam proteínas no citosol, e vários organismos extracelulares que são fagocitados e têm suas proteínas transportadas a partir de vesículas para dentro do citosol. Todos os vírus codificam proteínas que são sintetizadas no citoplasma da célula infectada e que são o tipo mais comum de proteínas microbianas processadas pelo proteassomo e apresentadas em moléculas do MHC de classe I. Os peptídeos que são apresentados em

associação com moléculas de classe I também podem ser derivados de microrganismos e outros antígenos particulados que são internalizados em fagossomos, mas escapam para o citosol. Alguns microrganismos conseguem danificar as membranas do fagossomo e criam poros através dos quais os microrganismos e seus antígenos entram no citosol. Por exemplo, linhagens patogênicas de *Listeria monocytogenes* produzem uma proteína chamada listeriolisina que permite às bactérias escaparem das vesículas para dentro do citosol. (Esse escape é um mecanismo que as bactérias podem ter desenvolvido para resistir ao *killing* por meio dos mecanismos microbicidas dos fagócitos, a maioria dos quais estão concentrados nos fagolisossomos.) Uma vez no citosol, os antígenos dos microrganismos fagocitados são processados do mesmo modo como outros antígenos citosólicos. Nas DCs, algumas proteínas microbianas ingeridas dentro de vesículas entram na via citosólica de classe I, no processo chamado apresentação cruzada, descrito posteriormente. Algumas bactérias têm sistemas de secreção de tipo III que injetam proteínas bacterianas no interior do citosol.

Além desses antígenos microbianos, as proteínas sintetizadas em ribossomos livres que são inadequadamente dobradas são degradadas nos proteassomos. As proteínas produzidas no retículo endoplasmático e que não são dobradas corretamente ou são montadas de maneira incorreta nesse compartimento são translocadas para fora do retículo endoplasmático e degradadas nos proteassomos. Algumas proteínas nucleares também são degradadas nos proteassomos. Esses tipos de proteínas são encontradas com frequência em células danificadas e tumores, e estão envolvidas nas respostas da célula T contra antígenos oriundos dessas células. Nas células tumorais, várias proteínas mutantes presentes no citosol podem ser processadas pelo proteassomo, apresentadas em moléculas do MHC classe I e reconhecidas por CTLs classe I-restritas (Capítulo 18).

Digestão de Proteínas nos Proteassomos

A degradação de proteínas nos proteassomos gera peptídeos que são capazes de se ligar a moléculas do MHC de classe I. Os proteassomos são complexos enzimáticos multiproteicos com uma ampla gama de atividade proteolítica, encontrados no citoplasma e núcleos da maioria das células. Um proteassomo tem a forma de um cilindro composto por um conjunto de dois anéis β internos e dois anéis α externos empilhados, com cada anel sendo composto por sete subunidades e com uma estrutura em forma de

tampa em qualquer uma das extremidades do cilindro. As proteínas nos anéis α externos são estruturais e sem atividade proteolítica; nos anéis β internos, três das sete subunidades (β1, β2 e β5) são os sítios catalíticos de proteólise.

O proteassomo realiza uma função de manutenção básica nas células, degradando muitas proteínas danificadas ou incorretamente dobradas. A síntese proteica normalmente ocorre a uma velocidade rápida, com cerca de 6-8 resíduos de aminoácidos sendo incorporados no alongamento de cadeias polipeptídicas a cada segundo. Esse processo é suscetível a erros e se estima que cerca de 20% das proteínas recém-sintetizadas são dobradas incorretamente. Esses polipeptídeos recém-traduzidos e, contudo, defeituosos, bem como as proteínas danificadas pelos estresses celulares, são marcadas como alvo de degradação proteassômica pela ligação covalente de várias cópias de um pequeno polipeptídeo chamado ubiquitina. As proteínas com cadeias contendo quatro ou mais ubiquitinas são reconhecidas pela tampa do proteassomo e, então, desdobradas. A ubiquitina é removida, e as proteínas são introduzidas de maneira espiralada ao longo dos proteassomos, onde são degradadas em peptídeos. O proteassomo tem ampla especificidade de substrato e pode gerar uma grande variedade de peptídeos a partir de proteínas citosólicas (mas, em geral, não as degrada completamente em aminoácidos isolados). Em células tratadas com a citocina IFN-γ, observa-se transcrição e síntese aumentadas de três subunidades catalíticas novas do proteassomo, conhecidas como β1i, β2i e β5i, as quais substituem as três subunidades catalíticas do anel β do proteassomo. (O "i" se refere a imunoproteassomo, implicando que esse tipo de proteassomo é produzido durante as respostas imunes inata e adaptativa, e é especialmente importante para o processamento antigênico, uma etapa essencial nas respostas de célula T.) A produção dessas subunidades resulta em uma alteração na especificidade do substrato do proteassomo, de modo que os peptídeos produzidos geralmente contêm aminoácidos hidrofóbicos carboxiterminais, como leucina, valina, isoleucina e metionina, ou resíduos básicos, como lisina ou arginina. Esses tipos de C-terminais são típicos de peptídeos que se ligam a moléculas de classe I. Esse é um mecanismo pelo qual o IFN-γ intensifica a apresentação antigênica, sendo outro mecanismo a expressão aumentada de moléculas do MHC (Fig. 6.8). Assim, os proteassomos são organelas cuja função celular básica foi adaptada para um papel especializado na apresentação antigênica.

Transporte de Peptídeos do Citosol para o Retículo Endoplasmático

Os peptídeos gerados pelos proteassomos no citosol são translocados por um transportador especializado para dentro do RE, onde moléculas do MHC de classe I recém-sintetizadas estão disponíveis para ligação aos peptídeos. Essa distribuição é mediada por uma proteína dimérica localizada na membrana do RE chamada **transportador associado ao processamento antigênico (TAP, do inglês, *transporter associated with antigen processing*)**, membro da família de proteínas do transportador ABC. Muitas proteínas dessa família medeiam o transporte ATP-dependente de compostos de baixo peso molecular ao longo das membranas celulares. Embora o heterodímero TAP tenha ampla gama de especificidades, transporta de modo ideal peptídeos na faixa de 8-16 aminoácidos de comprimento contendo terminais carboxil básicos ou hidrofóbicos. Como mencionado, essas são as características dos peptídeos gerados no proteassomo e que são capazes de se ligar a moléculas do MHC de classe I.

Montagem de Complexos Peptídeo-MHC de Classe I no Retículo Endoplasmático

Os peptídeos translocados para dentro do RE se ligam a moléculas do MHC de classe I associadas ao dímero TAP por meio da tapasina. Na face luminal da membrana do RE, a proteína TAP se associa com uma proteína chamada tapasina, que também tem afinidade por moléculas do MHC de classe I vazias recém-sintetizadas. Dessa forma, a tapasina aproxima o transportador TAP a um complexo contendo moléculas do MHC de classe I que aguardam a chegada de peptídeos. A síntese e montagem das moléculas de classe I envolvem um processo em múltiplas etapas, em que a ligação peptídica tem papel decisivo. As cadeias α de classe I e a β2-microglobulina são sintetizadas no RE. O dobramento apropriado das cadeias α nascentes é auxiliado por proteínas chaperona, como a chaperona de membrana calnexina, e também a chaperona luminal calreticulina. No interior do RE, os dímeros de MHC de classe I vazios recém-formados permanecem ligados ao complexo TAP. As moléculas do MHC de classe I vazias, a tapasina e TAP fazem parte de um complexo maior de carregamento de peptídeos no RE, incluindo também a calnexina, calreticulina e outros componentes que contribuem para a montagem e carregamento do MHC de classe I. Os peptídeos que entram

no RE via TAP, e também os peptídeos produzidos no RE, como os peptídeos sinalizadores oriundos da membrana ou proteínas secretadas, são frequentemente aparados até o tamanho apropriado para ligação do MHC pela aminopeptidase RE-residente (ERAP, do inglês, *ER-resident aminopeptidase*). O peptídeo então é capaz de se ligar à fenda da molécula de classe I adjacente. Uma vez que as moléculas do MHC de classe I estejam carregadas com o peptídeo, perdem a afinidade pela tapasina, por isso o complexo peptídeo-classe I é liberado e consegue sair do RE e ser transportado para a superfície celular. Na presença do peptídeo ligado, muitos dos dímeros de cadeia α/β2-microglobulina recém-formados são instáveis e não podem ser transportados de modo eficiente do RE para o complexo de Golgi. Esses complexos de MHC de classe I vazios dobrados incorretamente são transportados para dentro do citosol e eliminados por digestão proteassômica.

Os peptídeos transportados para o interior do RE preferencialmente se ligam a moléculas do MHC de classe I e não as de classe II, por dois motivos. Primeiro, as moléculas de classe I recém-sintetizadas são fixas ao aspecto luminal do complexo TAP e capturam peptídeos rapidamente, conforme os peptídeos vão sendo transportados para dentro do RE pela TAP. Em segundo lugar, como já discutido, as fendas de ligação ao peptídeo das moléculas de classe II recém-sintetizadas no RE são bloqueadas por uma proteína chamada cadeia invariante.

Expressão de Superfície dos Complexos Peptídeo-MHC de Classe I

As moléculas do MHC de classe I contendo peptídeos ligados são estruturalmente estáveis e expressas na superfície celular. Complexos peptídeo-MHC de classe I estáveis produzidos no RE se movem pelo complexo de Golgi e são transportados para a superfície celular em vesículas exocíticas. Uma vez expressos na superfície celular, os complexos peptídeo-classe I podem ser reconhecidos por células T $CD8^+$ específicas para o antígeno peptídico, com o correceptor CD8 exercendo papel essencial ao se ligar às regiões não polimórficas da molécula de classe I. Diversos vírus desenvolveram mecanismos que interferem na montagem de classe I e no carregamento de peptídeo, enfatizando a importância desta via para a imunidade antiviral (Capítulo 16).

A Via do MHC de Classe II para Apresentação de Proteínas Degradadas em Lisossomos

A geração de peptídeos associados ao MHC de classe II oriundos de antígenos endocitados envolve a degradação proteolítica de proteínas internalizadas em endossomos tardios e lisossomos, e a ligação de peptídeos a moléculas do MHC de classe II neste compartimento vesicular acídico. Essa sequência de eventos é ilustrada na Figura. 6.15, e as etapas individuais são descritas a seguir.

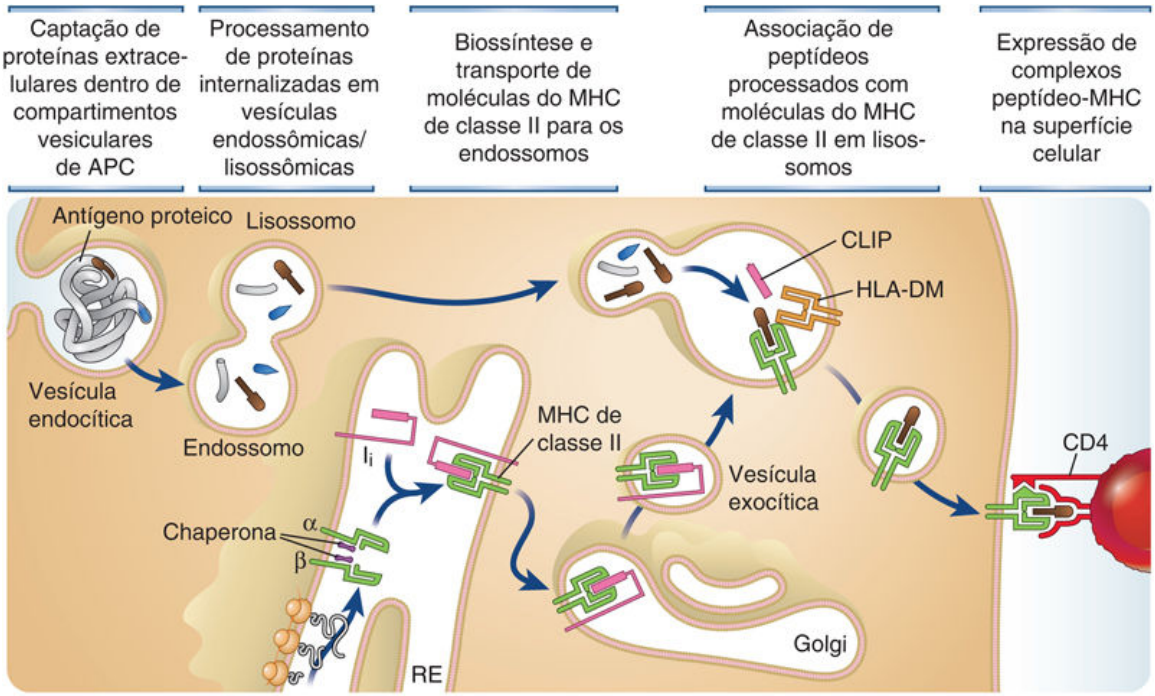


FIGURA 6.15 A via do MHC de classe II de apresentação antigênica.
Os estágios no processamento de antígenos extracelulares são descritos no texto. *CLIP*, peptídeo de cadeia invariante associado à classe II; *RE*, retículo endoplasmático; I_i, cadeia invariante.

Marcação de Antígenos Proteicos como Alvos para Lisossomos

A maioria dos peptídeos associados ao MHC de classe II deriva de antígenos proteicos que são digeridos em endossomos e lisossomos nas APCs. As proteínas que são marcadas como alvo para os lisossomos

incluem as proteínas extracelulares capturadas por endocitose, pinocitose ou fagocitose; proteínas de superfície celular que estão sendo endocitadas e degradadas; e proteínas intracelulares que podem ser ligadas à membrana, vesiculares ou citosólicas, incluídas de modo rotineiro nos autofagolisossomos durante o processo de autofagia. As etapas iniciais na apresentação de um antígeno proteico extracelular são a ligação do antígeno nativo a uma APC e a internalização do antígeno. Diferentes APCs podem se ligar a antígenos proteicos de várias formas e com eficiências e especificidades variáveis. DCs e macrófagos expressam uma variedade de receptores de superfície, como as lectinas, que reconhecem estruturas compartilhadas por muitos microrganismos (Capítulo 4). Essas APCs usam os receptores para se ligar e internalizar microrganismos de maneira eficiente. Os macrófagos também expressam receptores para as porções Fc de anticorpos e receptores para a proteína de complemento C3b, que se ligam a antígenos ligados a anticorpos ou proteínas do complemento e intensificam sua internalização. Outro exemplo de receptores específicos presentes em APCs é a Ig de superfície nas células B. Devido à sua alta afinidade por antígenos, essa Ig pode mediar efetivamente a internalização de proteínas presentes em concentrações baixíssimas no fluido extracelular (Capítulo 12).

Após sua internalização, os antígenos proteicos se tornam localizados em vesículas intracelulares ligadas à membrana chamadas endossomos. A via endossômica de trânsito de proteínas intracelulares se comunica com os lisossomos, os quais são vesículas mais densas ligadas à membrana que contêm enzimas. Os microrganismos particulados são internalizados para dentro de vesículas chamadas fagossomos, as quais podem se fundir aos lisossomos, produzindo vesículas chamadas fagolisossomos ou lisossomos secundários. Alguns microrganismos, como micobactérias e *Leishmania*, podem sobreviver e até se replicar no interior dos fagossomos ou endossomos, fornecendo uma fonte persistente de antígenos em compartimentos vesiculares.

Outras proteínas, que não aquelas ingeridas a partir do meio extracelular, também podem entrar na via do MHC de classe II. Algumas moléculas proteicas destinadas à secreção podem terminar nas mesmas vesículas que as moléculas do MHC de classe II, e podem ser processadas em vez de serem secretadas. Menos frequentemente, proteínas citoplasmáticas e de membrana podem ser processadas e exibidas por moléculas de classe II. Em alguns casos, isso pode resultar da digestão enzimática de conteúdos citoplasmáticos, referida como **autofagia**. Nessa via, as proteínas citosólica são capturadas em vesículas ligadas à

membrana chamadas autofagossomos; essas vesículas se fundem com os lisossomos e as proteínas citoplasmáticas são proteoliticamente degradadas. Os peptídeos gerados por essa via podem ser distribuídos ao mesmo compartimento vesicular que os peptídeos derivados de antígenos ingeridos. A autofagia é primariamente um mecanismo para degradação de proteínas celulares e reciclagem de seus produtos como fontes de nutrientes durante momentos de estresse. Também participa na destruição de microrganismos intracelulares, os quais são englobados em vesículas e distribuídos aos lisossomos. Alguns peptídeos que se associam a moléculas de classe II derivam de proteínas de membrana, as quais podem ser recicladas na mesma via endocítica que as proteínas extracelulares. Dessa forma, até os vírus, que são montados no citoplasma de células infectadas, podem produzir proteínas que são degradadas em peptídeos que entram na via do MHC de classe II a apresentação antigênica. Esse pode ser um mecanismo para a ativação de células T auxiliares $CD4^+$ específicas para os antígenos virais.

Digestão Proteolítica de Antígenos nos Lisossomos

As proteínas internalizadas são degradadas enzimaticamente nos endossomos tardios e lisossomos, para gerar peptídeos que são capazes de se ligar às fendas de ligação ao peptídeo das moléculas do MHC de classe II. A degradação de antígenos proteicos em vesículas é mediada por proteases que têm pH ideal ácido. As proteases mais abundantes nos endossomos tardios são as catepsinas, que são tiol e aspartil proteases com amplas especificidades de substrato. Várias catepsinas contribuem para a geração de peptídeos para a via de classe II. Proteínas parcialmente degradadas ou clivadas se ligam às fendas abertas nas moléculas do MHC de classe II e são então enzimaticamente aparadas ao seu tamanho final.

Biossíntese e Transporte de Moléculas do MHC de Classe II para os Endossomos

As moléculas do MHC de classe II são sintetizadas no RE e transportadas para os endossomos com uma proteína associada, a cadeia invariante (I_i), que ocupa as fendas de ligação ao peptídeo das moléculas do MHC de classe II recém-sintetizadas (Fig. 6.16). As cadeias α e β das moléculas do MHC de classe II são coordenadamente sintetizadas e se associam umas com as outras no RE. O dobramento e a montagem das moléculas do MHC de classe II são auxiliados por chaperonas residentes no RE, como a

calnexina. A I_i se associa aos dímeros de MHC de classe II recém-formados no RE e direciona estas moléculas a trafegarem do trans-Golgi para os endossomos tardios e lisossomos, onde as proteínas internalizadas foram proteoliticamente degradadas em peptídeos. A I_i é um trímero composto por três subunidades de 30 kDa, cada uma das quais se liga a um heterodímero $\alpha\beta$ de MHC de classe II recém-sintetizado, de forma a bloquear a fenda de ligação ao peptídeo e impedí-la de aceitar peptídeos. Como resultado, as moléculas do MHC de classe II não podem se ligar e apresentar os peptídeos que encontram no RE, deixando-os se associar a moléculas de classe I (descritas anteriormente). As moléculas do MHC de classe II são transportadas em vesículas do RE para o Golgi. As vesículas que "brotam" do trans-Golgi e contêm o complexo MHC de classe II-I_i são transportadas para os lisossomos. Dessa forma, as moléculas do MHC de classe II encontram os peptídeos antigênicos gerados por proteólise de proteínas endocitadas e a associação peptídeo-MHC acontece nos lisossomos.

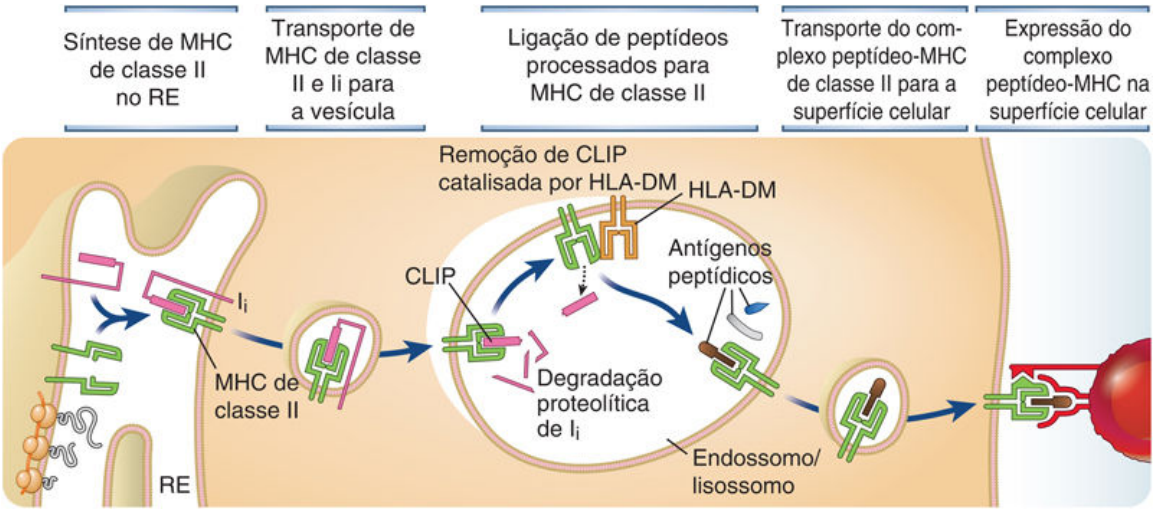


FIGURA 6.16 As funções da cadeia invariante associada ao MHC de classe II e HLA-DM.
As moléculas de classe II com a cadeia invariante ligada, ou CLIP, são transportadas para os endossomos tardios e lisossomos, onde a I_i é degradada e o CLIP remanescente é removido pela ação de DM. Os peptídeos antigênicos gerados nas vesículas são então capazes de se ligar às moléculas de classe II. Outra proteína do tipo classe II, chamada DO, pode regular a remoção DM-catalisada de CLIP *(não mostrado)*. *CIIV*, vesícula de classe II.

Associação de Peptídeos Processados com Moléculas do MHC de Classe II em Vesículas

Dentro das vesículas endossômicas, a I_i se dissocia das moléculas do MHC de classe II via ação combinada de enzimas proteolíticas e da molécula HLA-DM, e os peptídeos derivados dos antígenos proteicos são, então, capazes de se ligar às fendas de ligação ao peptídeo das moléculas do MHC de classe II (Fig. 6.16). Embora as moléculas do MHC de classe II sejam relativamente resistentes às proteases lisossomais, a I_i é degradada nesse compartimento. As mesmas enzimas proteolíticas geradoras de peptídeos a partir das proteínas internalizadas, como as catepsinas, também atuam na I_i, deixando apenas um remanescente de 24 aminoácidos chamado peptídeo I_i associado à classe II (CLIP, do inglês, *class II–associated I_i peptide*), o qual se assenta na fenda de ligação ao peptídeo. O deslocamento do CLIP e sua substituição por um peptídeo antigênico de maior afinidade nos lisossomos ocorre por meio da ação de uma molécula chamada **HLA-DM** (ou H-2M, em camundongos). HLA-DM é codificada dentro do *locus* do MHC, tem uma estrutura similar a das moléculas do MHC de classe II e se colocaliza com moléculas do MHC de classe II em certos endossomos. Diferentemente das moléculas do MHC de classe II, as moléculas de HLA-DM não são polimórficas e não são expressas na superfície celular. HLA--DM atua como trocador de peptídeo, facilitando a remoção do CLIP e a adição de peptídeos de maior afinidade derivados de antígenos proteicos às moléculas do MHC de classe II.

A molécula DM também edita o repertório de peptídeos que são apresentados, favorecendo a exibição de peptídeos que se ligam a moléculas do MHC de classe II com alta afinidade. A molécula DM se liga a moléculas do MHC de classe II e cobre alguns bolsos de ligação ao peptídeo, de modo que os peptídeos de baixa de afinidade não conseguem se ligar de modo estável às moléculas do MHC. Entretanto, os peptídeos que se ligam às moléculas do MHC com alta afinidade deslocam DM e ocupam toda a fenda de ligação ao peptídeo das moléculas do MHC. Portanto, a presença de DM é importante para a seleção de peptídeos que se ligam fortemente às moléculas do MHC em cada indivíduo, bem como na exibição destes peptídeos às células T.

Como as extremidades da fenda de ligação ao peptídeo na molécula de MHC de classe II estão abertas, peptídeos maiores podem se ligar e serem, então, aparados por enzimas proteolíticas ao tamanho apropriado para

reconhecimento pela célula T. Como resultado, os peptídeos que de fato são apresentados ligados a moléculas do MHC de classe II na superfície celular têm, em geral, 10 a 30 aminoácidos de comprimento e são tipicamente gerados por essa etapa de aparação.

Expressão de Complexos Peptídeo-MHC de Classe II na Superfície Celular

As moléculas do MHC de classe II são estabilizadas pelos peptídeos ligados, e os complexos peptídeo-classe II estáveis são distribuídos para a superfície da APC, onde são exibidos para o reconhecimento por células T CD4+. Acredita-se que o transporte dos complexos MHC de classe II-peptídeo para a superfície celular ocorra por fusão das extensões vesiculotubulares do lisossomo com a membrana plasmática, resultando na distribuição de complexos de MHC de classe II carregados à superfície celular. Uma vez expressos na superfície da APC, os complexos peptídeo-classe II são reconhecidos pelas células T $CD4^+$ antígeno-específicas, com o correceptor CD4 exercendo papel essencial via ligação a regiões não polimórficas da molécula de classe II.

Apresentação Cruzada

Algumas células dendríticas têm a capacidade de capturar e ingerir células infectadas por vírus ou células tumorais, e apresentar os antígenos virais ou tumorais aos linfócitos T CD8+ **naive** (Fig. 6.17). Nessa via, os antígenos ingeridos são transportados das vesículas para o citosol, de onde os peptídeos entram na via de classe I. Essa permissividade para o trânsito de proteínas das vesículas endossômicas para o citosol é mais eficiente em uma subpopulação de DCs. (Ao mesmo tempo, as DCs podem apresentar peptídeos associados ao MHC de classe II gerados nas vesículas para as células T auxiliares $CD4^+$, as quais são frequentemente requeridas para indução de respostas integrais de células T $CD8^+$ [Capítulo 11].) Esse processo é chamado **apresentação cruzada** ou ***cross-priming***, indicando que um tipo celular (a DC) pode apresentar antígenos de outra célula (a célula infectada por vírus ou a célula tumoral) e condicionar, ou ativar, células T específicas para esses antígenos. Embora nominalmente possa parecer que o processo de apresentação cruzada viola a regra de que os antígenos ingeridos são degradados em endossomos e lisossomos, e apresentados ligados a moléculas do MHC de classe II, nessa situação, os antígenos ingeridos são distribuídos para o citosol, degradados nos

proteassomos e entram na via de classe I. A regra fundamental de que peptídeos derivados pelo lisossomo são apresentados em moléculas do MHC de classe II, enquanto aqueles derivados pelo proteassomo são apresentados em moléculas do MHC de classe I nunca é violada.

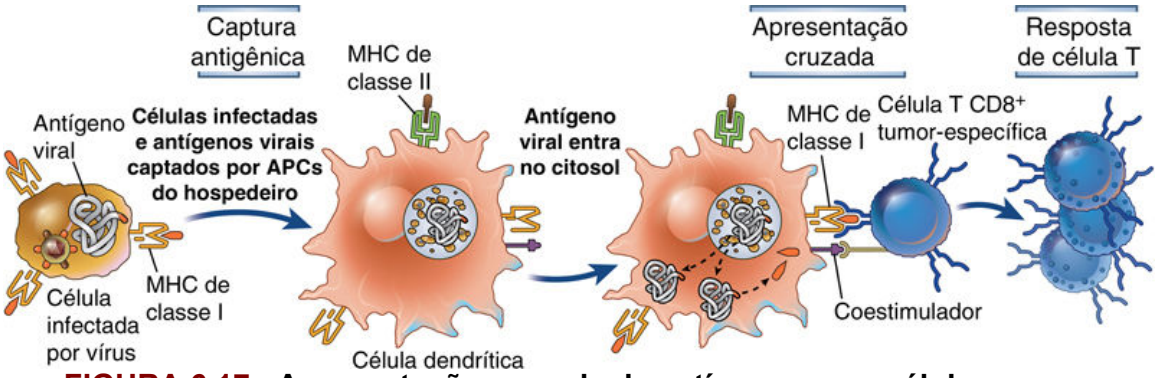


FIGURA 6.17 Apresentação cruzada de antígenos para células T CD8$^+$.
Células infectadas com microrganismos intracelulares, como vírus, são ingeridas por células dendríticas e os antígenos dos microrganismos infecciosos são transportados para o citosol e processados pelos proteassomos (não mostrado), e apresentados em associação com moléculas do MHC de classe I a células T CD8$^+$ (Fig. 6.16). Assim, as células dendríticas são capazes de apresentar antígenos vesiculares endocitados pela via de classe I. Note que as mesmas APCs que fazem apresentação cruzada podem exibir antígenos associados ao MHC de classe II oriundos do microrganismo para reconhecimento pelas células T auxiliares CD4$^+$ (não mostrado).

A apresentação cruzada envolve a fusão de fagossomos, contendo os antígenos ingeridos, com o RE. As proteínas ingeridas são então translocadas a partir do compartimento de fusão RE-fagossomo para o citosol, através de vias insuficientemente definidas que provavelmente estão envolvidas na apresentação de proteínas degradadas no RE. As proteínas inicialmente internalizadas no fagossomo são, portanto, distribuídas ao compartimento (citosol) onde normalmente ocorre a proteólise para a via de classe I. Essas proteínas fagocitadas seguem, então, para a degradação proteassômica, e os peptídeos delas derivados são transportados pela TAP de volta ao RE, onde são montados com as moléculas do MHC de classe I recém-sintetizadas, conforme descrito para a via de classe I convencional.

O processo de apresentação cruzada é importante para as respostas de célula T $CD8^+$ a vírus, outros microrganismos citosólicos e tumores. Esses microrganismos normalmente infectam células que não são DCs, e as células tumorais surgem a partir de células que não são APCs. A defesa contra esses patógenos e tumores requer células T $CD8^+$, e a ativação destas células T é mais bem induzida pela apresentação antigênica feita pelas DCs. A apresentação cruzada permite que as DCs apresentem antígenos produzidos em outros tipos celulares, e exibam peptídeos derivados desses antígenos para serem reconhecidos pelas células T $CD8^+$, iniciando assim respostas imunes efetivas.

Significância Fisiológica da Apresentação do Antígeno Associado ao MHC

Até agora, discutimos a especificidade dos linfócitos T $CD4^+$ e $CD8^+$ para antígenos proteicos estranhos associados ao MHC e os mecanismos pelos quais os complexos de peptídeos e moléculas do MHC são produzidos. Nessa seção, consideraremos como o papel central do MHC na apresentação antigênica influencia a natureza das respostas das células T a diferentes antígenos e os tipos de antígenos reconhecidos pelas células T.

Natureza das Respostas de Células T

A apresentação de proteínas citosólicas* versus *vesiculares pelas vias de MHC de classes I e II, respectivamente, determina qual subpopulação de células T responderá aos antígenos encontrados nesses dois* pools *de proteínas, além de estar intimamente ligada às funções dessas células T (Fig. 6.18). Antígenos sintetizados endogenamente, como proteínas virais e tumorais, estão localizados no citosol e são reconhecidos por CTLs $CD8^+$ restritos ao MHC de classe I, os quais matam as células produtoras de antígenos intracelulares. Ao contrário, os antígenos extracelulares em geral terminam em vesículas endossômicas e ativam células T $CD4^+$ restritas ao MHC de classe II, porque as proteínas vesiculares são processadas em peptídeos ligantes de classe II. As células T $CD4^+$ atuam como auxiliares para estimular as células B a produzirem anticorpos e ativar macrófagos para intensificar suas funções fagocíticas, ambos mecanismos que servem para eliminar antígenos extracelulares. Sendo assim, antígenos de microrganismos que residem em diferentes localizações celulares estimulam seletivamente as respostas de células T mais efetivas na eliminação deste tipo de microrganismo. Isto é especialmente importante,

porque os receptores antigênicos dos CTLs e das células T auxiliares não conseguem distinguir entre microrganismos extracelulares e intracelulares. Segregando os peptídeos derivados destes tipos de microrganismos, as moléculas do MHC guiam as subpopulações de células T $CD4^+$ e $CD8^+$ a responderem aos microrganismos que cada subpopulação melhor combate.

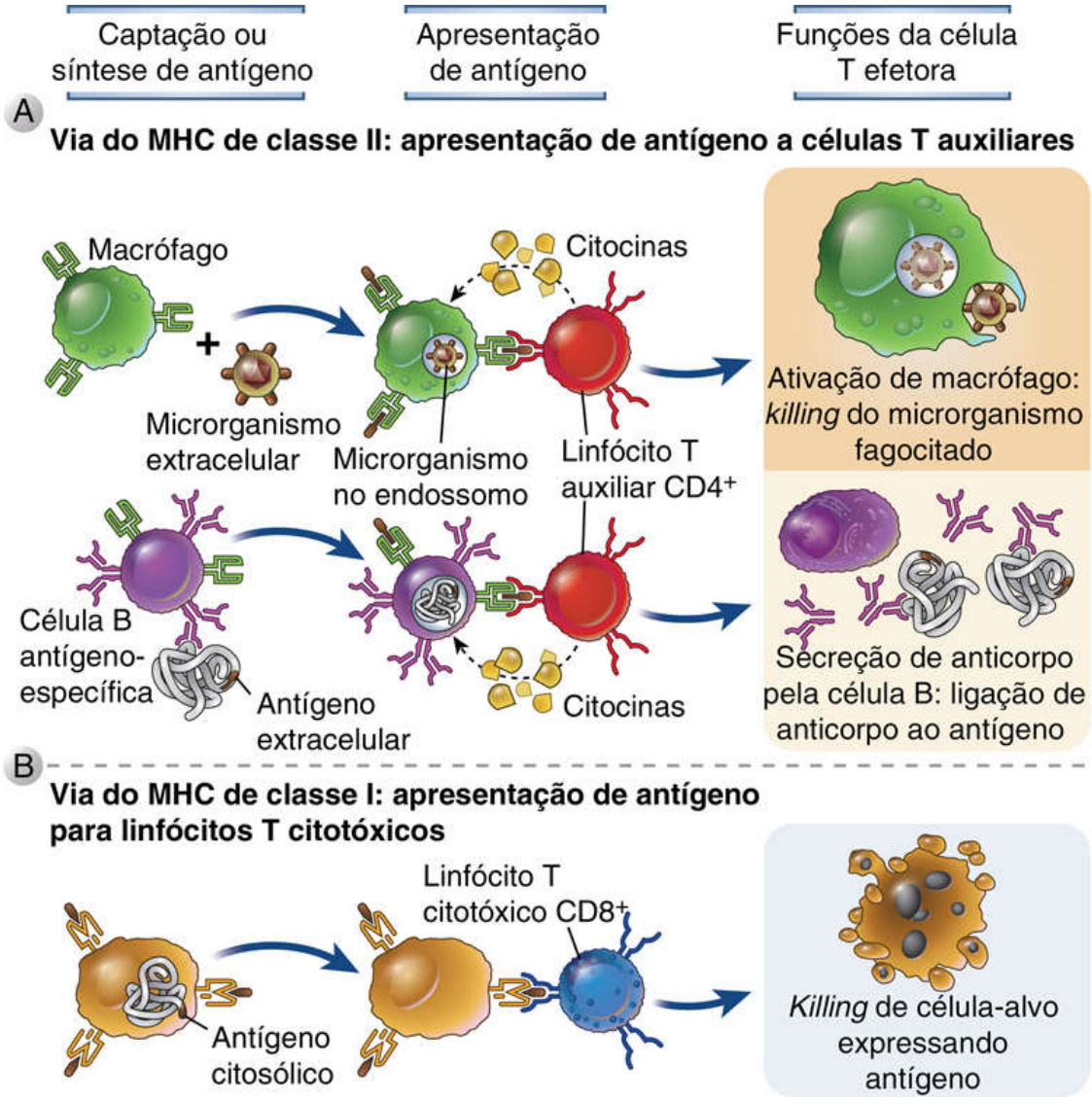


FIGURA 6.18 Apresentação de antígenos extracelulares e citosólicos a diferentes subpopulações de células T efetoras. **A,** Os antígenos citosólicos são apresentados por células nucleadas aos CTLs $CD8^+$, os quais matam (lisam) as células que expressam os antígenos. **B,** Os antígenos extracelulares são apresentados por macrófagos ou linfócitos B a linfócitos T auxiliares $CD4^+$, os quais ativam macrófagos ou células B e eliminam os antígenos extracelulares.

Imunogenicidade de Antígenos Proteicos

As moléculas do MHC determinam a imunogenicidade de antígenos proteicos de duas formas relacionadas.

- ***Os epítopos de proteínas complexas que desencadeiam as respostas mais fortes de célula T são os peptídeos gerados por proteólise nas APCs e que se ligam mais avidamente às moléculas do MHC.*** Se um indivíduo é imunizado com um antígeno proteico, em muitos casos a maioria das células T responsivas são específicas somente para uma ou algumas sequências de aminoácidos lineares do antígeno. Esses são os chamados determinantes ou epítopos **imunodominantes.** As proteases envolvidas no processamento antigênico produzem uma variedade de peptídeos a partir de proteínas naturais, e apenas alguns desses peptídeos exibem características que lhes permitem se ligar às moléculas do MHC presentes em cada indivíduo (Fig. 6.19). É importante definir a base estrutural da imunodominância, porque isso pode permitir a manipulação eficiente do sistema imune usando peptídeos sintéticos. Uma aplicação desse conhecimento é o delineamento de vacinas. Por exemplo, uma proteína viral poderia ser analisada quanto à presença de sequências de aminoácidos que formariam epítopos imunodominantes típicos capazes de se ligar às moléculas do MHC com alta afinidade. Essas análises podem ser realizadas experimentalmente ou in silico (simuladas por computador). Peptídeos sintéticos contendo estes epítopos podem ser vacinas efetivas para deflagrar respostas de célula T contra os peptídeos virais expressos em uma célula infectada.
- ***A expressão de alelos de MHC de classe II particulares em um indivíduo determina a capacidade deste indivíduo de responder a antígenos particulares.*** Como discutido antes, os genes Ir que controlam as respostas de anticorpo são genes de MHC de classe II. Esses genes influenciam a imunorresponsividade, porque várias moléculas do MHC de classe II produzidas por alelos distintos diferem quanto à habilidade de se ligar a peptídeos antigênicos diferentes e, portanto, de estimular células T auxiliares específicas. As consequências da herança de um dado alelo do MHC dependem da natureza dos antígenos peptídicos que podem se ligar à molécula de MHC codificada por aquele alelo. Exemplificando, se o antígeno é um peptídeo de pólen de tasneira, o indivíduo que expressar moléculas de classe II capazes de se ligar ao peptídeo seria geneticamente propenso ao desenvolvimento de reações alérgicas contra o pólen. Ao contrário, alguns indivíduos não respondem a vacinas (como a vacina com

antígeno de superfície do vírus da hepatite B), provavelmente porque suas moléculas de HLA não podem se ligar e exibir os principais peptídeos do antígeno.

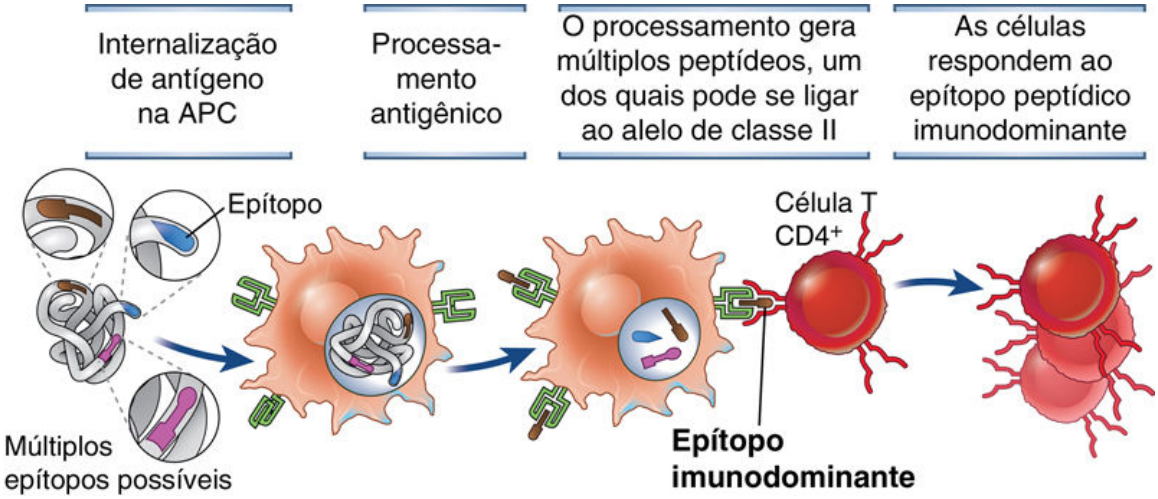


FIGURA 6.19 Imunodominância de peptídeos.
Os antígenos proteicos são processados para gerar múltiplos peptídeos; peptídeos imunodominantes são aqueles que se ligam melhor às moléculas do MHC de classes I e II disponíveis. A ilustração mostra um antígeno extracelular gerando um peptídeo de ligação à classe II, porém isso também se aplica aos peptídeos de antígenos citosólicos que são apresentados pelas moléculas do MHC de classe I.

Apresentação de Antígenos não Proteicos para Células T

As células T também reconhecem e reagem contra moléculas pequenas e até íons metálicos, de modo MHC-restrito. De fato, a exposição a algumas moléculas pequenas usadas como fármacos terapêuticos e metais como níquel e berílio muitas vezes leva a reações patológicas de célula T (chamadas reações de hipersensibilidade; Capítulo 19). Há várias formas pelas quais estes antígenos não peptídicos podem ser reconhecidos por células T $CD4^+$ e $CD8^+$ MHC-restritas. Considera-se que alguns compostos químicos promovem a modificação covalente de autopeptídeos ou das próprias moléculas do MHC, criando moléculas alteradas que são reconhecidas como estranhas. Outros compostos químicos se ligam de modo não covalente a moléculas do MHC e alteram a estrutura da fenda de ligação ao peptídeo, de modo que a molécula de MHC pode exibir peptídeos que não são normalmente apresentados, e assim esses complexos peptídeo-MHC são considerados estranhos.

Diversas pequenas populações de células T, que não as células $CD4^+$ nem as $CD8^+$, são capazes de reconhecer antígenos não proteicos sem envolvimento de moléculas do MHC de classes I ou II. Assim, estas populações são exceções à regra de que as células T somente podem "ver" peptídeos associados ao MHC. Dentre essas populações, as mais bem definidas são as células T *natural killer* (NKT) e as células T $\gamma\delta$.

As células NKT expressam marcadores que são característicos tanto de células NK como de linfócitos T, e expressam receptores de células T $\alpha\beta$ com diversidade muito limitada (Capítulo 10). As células NKT reconhecem lipídeos e glicolipídeos exibidos pela molécula de MHC de classe I não clássica chamada **CD1**. Existem várias proteínas CD1 expressas em seres humanos e camundongos. Embora suas vias de tráfego intracelular sejam sutilmente distintas, todas as moléculas CD1 se ligam e exibem lipídeos através de um único mecanismo. Moléculas CD1 recém-sintetizadas captam lipídeos celulares e os levam para a superfície celular. A partir desse ponto, os complexos CD1-lipídeo são endocitados em endossomos ou lisossomos, onde os lipídeos que foram ingeridos a partir do ambiente externo são captados e os novos complexos CD1-lipídeo são devolvidos à superfície celular. Dessa forma, as moléculas CD1 adquirem antígenos lipídicos endocitados durante a reciclagem e os apresentam sem processamento evidente. As células NKT que reconhecem os antígenos

lipídicos podem atuar na defesa contra microrganismos, em especial microbactérias (que são ricas em componentes lipídicos).

As células T γδ constituem uma pequena população de células T expressando proteínas receptoras de antígeno que, apesar de similares, não são idênticas àquelas presentes nas células T $CD4^+$ e $CD8^+$ (Capítulo 10). As células T γδ reconhecem muitos tipos diferentes de antígenos, incluindo algumas proteínas e lipídeos, bem como pequenas moléculas fosforiladas e alquilaminas. Esses antígenos não são exibidos pelas moléculas do MHC e as células γδ não são MHC-restritas. Não é sabido se um tipo celular ou sistema de exibição antigênica em particular é requerido para a apresentação a essas células.

Resumo

- Os receptores antigênicos da maioria das células T reconhecem apenas peptídeos exibidos por moléculas do MHC na superfície de células apresentadoras de antígeno (APCs). Os linfócitos T auxiliares $CD4^+$ reconhecem antígenos associados a moléculas do MHC de classe II, enquanto os CTLs $CD8^+$ reconhecem antígenos associados a moléculas do MHC de classe I.
- As APCs capturam antígenos proteicos, processam esses antígenos e exibem os peptídeos associados ao MHC às células T. As células dendríticas são as APCs mais eficientes para a iniciação de respostas primárias via ativação de células T *naive*, enquanto os macrófagos e linfócitos B apresentam antígenos a células T auxiliares na fase efetora da imunidade mediada por células, bem como nas respostas imunes humorais, respectivamente. Todas as células nucleadas podem apresentar peptídeos associados à classe I derivados de proteínas citosólicas, como os antígenos virais e tumorais, às células T $CD8^+$.
- As células dendríticas capturam antígenos de seus sítios de entrada (em geral, os epitélios) ou produção (nos tecidos) e transportam esses antígenos para os órgãos linfoides periféricos (secundários). As células T *naive* que recirculam por esses órgãos reconhecem os antígenos e, então, as respostas imunes primárias são induzidas nestes órgãos.
- O complexo principal de histocompatibilidade (MHC) é uma região genética ampla que codifica moléculas do MHC de classes I e II, altamente polimórficas, expressas de modo codominante.
- As moléculas do MHC de classe I são compostas por uma cadeia α (ou pesada) em um complexo não covalente contendo um polipeptídeo não polimórfico chamado β_2-microglobulina. As moléculas do MHC de classe II contêm duas cadeias polimórficas MHC--codificadas, uma cadeia α e uma cadeia β. Ambas as classes de moléculas do MHC consistem em uma fenda extracelular de ligação ao peptídeo, uma região tipo Ig não polimórfica, uma região transmembrana e uma região citoplasmática. A fenda de ligação ao peptídeo das moléculas do MHC possuem laterais α-

helicoidais e um assoalho em folha β-pregueada antiparalela com oito alças.

- Os domínios tipo Ig das moléculas do MHC de classes I e II contêm os sítios de ligação para os correceptores CD8 e CD4 da célula T, respectivamente. Os resíduos polimórficos das moléculas do MHC estão localizados no domínio de ligação ao peptídeo.
- A função das moléculas do MHC de classes I e II é se ligar a antígenos peptídicos e exibí-los para serem reconhecidos por linfócitos T antígeno-específicos. Os antígenos peptídicos associados a moléculas do MHC de classe I são reconhecidos por células T $CD8^+$, enquanto os antígenos peptídicos associados ao MHC de classe II são reconhecidos por células T $CD4^+$. As moléculas do MHC se ligam a apenas um peptídeo de cada vez, e todos os peptídeos que se ligam a uma molécula particular de MHC compartilham motivos estruturais comuns. Toda molécula de MHC tem uma ampla especificidade para peptídeos e é capaz de se ligar a múltiplos peptídeos que possuem características estruturais comuns, como os resíduos âncora.
- A fenda de ligação ao peptídeo das moléculas do MHC de classe I conseguem acomodar peptídeos que têm 6-16 aminoácidos resíduos de comprimento, enquanto a fenda das moléculas do MHC de classe II permitem a ligação de peptídeos maiores (até 30 resíduos de aminoácidos ou mais de comprimento). Alguns resíduos de MHC polimórficos determinam as especificidades de ligação para os peptídeos via formação de estruturas denominadas bolsos que podem interagir com resíduos complementares do peptídeo ligado, chamados resíduos âncora. Outros resíduos de MHC polimórficos e alguns resíduos de peptídeo não estão envolvidos na ligação às moléculas do MHC, mas formam a estrutura reconhecida pelas células T.
- As moléculas do MHC de classe I são expressas em todas as células nucleadas, enquanto as moléculas do MHC de classe II são expressas principalmente em APCs especializadas, como as DCs, macrófagos e linfócitos B, entre outros poucos tipos celulares, incluindo as células endoteliais e células epiteliais tímicas. A expressão dos produtos dos genes do MHC é intensificada por estímulos inflamatórios e imunes, em particular por citocinas como o IFN-γ, que estimulam a transcrição de genes do MHC.
- O processamento antigênico consiste na conversão de proteínas nativas em peptídeos MHC-associados. O processo consiste na

introdução de antígenos proteicos exógenos em vesículas de APCs ou na síntese de antígenos no citosol, seguida da degradação proteolítica destas proteínas em peptídeos, ligação dos peptídeos a moléculas do MHC e exibição dos complexos peptídeo-MHC na superfície da APC, para reconhecimento pelas células T. Portanto, tanto proteínas extracelulares como proteínas intracelulares são amostradas por essas vias de processamento antigênico, e os peptídeos derivados tanto de proteínas próprias normais como de proteínas estranhas são exibidos pelas moléculas do MHC para fins de vigilância mediada por linfócitos T.

- Para a via do MHC de classe I, os antígenos proteicos são degradados no proteassomo, gerando peptídeos que se ligam a moléculas do MHC de classe I. A maioria desses antígenos são sintetizados no citosol ou introduzidos no citosol a partir de microrganismos ou vesículas. Esses peptídeos são distribuídos do citosol para o RE através de um transportador ATP-dependente chamado TAP. Os dímeros de MHC classe I-β2-microglobulina recém-sintetizados no RE estão associados ao complexo TAP e recebem peptídeos que são transportados para dentro do RE. Os complexos estáveis de moléculas do MHC de classe I com peptídeos ligados se movem para fora do RE, via complexo de Golgi, seguindo para a superfície celular.
- Para a via do MHC de classe II, os antígenos proteicos são internalizados em endossomos e essas proteínas são então proteoliticamente clivadas por enzimas nos lisossomos e endossomos tardios. Moléculas do MHC de classe II recém-sintetizadas associadas à cadeia invariante (I_i) são transportadas do RE para as vesículas endossômicas. Neste ponto, a I_i é proteoliticamente clivada e um pequeno remanescente peptídico da I_i, chamado CLIP, é removido da fenda de ligação ao peptídeo na molécula do MHC, por ação de moléculas DM. Os peptídeos gerados a partir de proteínas extracelulares se ligam à fenda disponível na molécula de MHC de classe II, e o complexo trimérico (cadeias α e β do MHC de classe II, além do peptídeo) é transportado e exibido na superfície da célula.
- Essas vias de apresentação antigênica MHC-restritas garantem que a maioria das células do corpo passem por uma varredura para detecção da possível presença de antígenos estranhos. As vias também garantem que proteínas de microrganismos extracelulares gerem preferencialmente peptídeos ligados a moléculas do MHC

de classe II para serem reconhecidos por células T auxiliares $CD4^+$, as quais ativam mecanismos efetores que eliminam antígenos extracelulares. Reciprocamente, as proteínas sintetizadas por microrganismos intracelulares (citosólicos) geram peptídeos ligados a moléculas do MHC de classe I para serem reconhecidos por CTLs $CD8^+$, os quais atuam eliminando células que abrigam infecções intracelulares. A imunogenicidade dos antígenos de uma proteína estranha depende da habilidade das vias de processamento antigênico de gerar peptídeos de proteínas que se ligam a moléculas do MHC próprias.

Referências Sugeridas

O Papel das Células Dendríticas na Captura e Apresentação do Antígeno

Bousso P. T-cell activation by dendritic cells in the lymph node: lessons from the movies. *Nat Rev Immunol*. 2008;8:675–684.

Heath WR, Carbone FR. Dendritic cell subsets in primary and secondary T cell responses at body surfaces. *Nat Immunol*. 2009;10:1237–1244.

Teijeira A, Russo E, Halin C. Taking the lymphatic route: dendritic cell migration to draining lymph nodes. *Semin Immunopathol*. 2014;36:261–274.

Estrutura dos Genes do Complexo Principal de Histocompatibilidade, Moléculas do Complexo de Histocompatibilidade Principal, e Complexos Peptídeo-Complexo Principal de Histocompatibilidade

Bjorkman PJ, Saper MA, Samraoui B, et al. Structure of the human class I histocompatibility antigen, HLA-A2. *Nature*. 1987;329:506–512.

Horton R, Wilming L, Rand V, et al. Gene map of the extended human MHC. *Nat Rev Genet*. 2004;5:889–899.

Kim A, Sadegh-Nasseri S. Determinants of immunodominance for CD4 T cells. *Curr Opin Immunol*. 2015;34:9–15.

Marrack P, Scott-Browne JP, Dai S, et al. Evolutionarily conserved amino acids that control TCR-MHC interaction. *Annu Rev Immunol*. 2008;26:171–203.

Reith W, LeibundGut-Landmann S, Waldburger JM. Regulation of MHC class II gene expression by the class II transactivator. *Nat Rev Immunol*. 2005;5:793–806.

Rossjohn J, Gras S, Miles JJ, et al. T cell antigen receptor recognition of antigen-presenting molecules. *Annu Rev Immunol*. 2015;33:169–200.

Stern LJ, Santambrogio L. The melting pot of the MHC II peptidome. *Curr Opin Immunol*. 2016;40:70–77.

Processamento de Antígeno Proteico e Apresentação de Antígenos Peptídicos Associados ao Complexo Principal de Histocompatibilidade

Basler M, Kirk CJ, Groettrup M. The immunoproteasome in antigen processing and other immunological functions. *Curr Opin Immunol*. 2013;25:74–80.

Blum JS, Wearsch PA, Cresswell P. Pathways of antigen processing. *Annu Rev Immunol*. 2013;31:443–473.

Chapman HA. Endosomal proteases in antigen presentation. *Curr Opin Immunol*. 2006;18:78–84.

Hansen TH, Bouvier M. MHC class I antigen presentation: learning from viral evasion strategies. *Nat Rev Immunol*. 2009;9:503–513.

Neefjes J, Jongsma ML, Paul P, Bakke O. Towards a systems understanding of MHC class I and MHC class II antigen presentation. *Nat Rev Immunol*. 2011;11:823–836.

Purcell AW, Elliott T. Molecular machinations of the MHC-I peptide loading complex. *Curr Opin Immunol*. 2008;20:75–81.

Roche PA, Furuta K. The ins and outs of MHC class II-mediated antigen processing and presentation. *Nat Rev Immunol*. 2015;15:203–216.

Schulze MS, Wucherpfennig KW. The mechanism of HLA-DM induced peptide exchange in the MHC class II antigen presentation pathway. *Curr Opin Immunol*. 2012;24:105–111.

Stern LJ, Potolicchio I, Santambrogio L. MHC class II compartment subtypes: structure and function. *Curr Opin Immunol*. 2006;18:64–69.

Unanue ER, Turk V, Neefjes J. Variations in MHC Class II antigen processing and presentation in health and disease. *Annu Rev Immunol*. 2016;34:265–297.

van Kasteren SI, Overkleeft H, Ovaa H, Neefjes J. Chemical biology of antigen presentation by MHC molecules. *Curr Opin Immunol*. 2014;26:21–31.

Vyas JM, Van der Veen AG, Ploegh HL. The known unknowns of antigen processing and presentation. *Nat Rev Immunol*. 2008;8:607–618.

Watts C. The endosome–lysosome pathway and information generation in the immune system. *Biochim Biophys Acta*. 2012;1824:14–21.

Apresentação Cruzada

Joffre OP, Segura E, Savina A, Amigorena S. Cross-presentation by dendritic cells. *Nat Rev Immunol*. 2012;12:557–569.

Kurts C, Robinson BW, Knolle PA. Cross-priming in health and disease. *Nat Rev Immunol*. 2010;10:403–414.

Norbury CC. Defining cross presentation for a wider audience. *Curr Opin Immunol*. 2016;40:110–116.

Schuette V, Burgdorf S. The ins-and-outs of endosomal antigens for cross-presentation. *Curr Opin Immunol*. 2014;26:63–68.

Segura E, Amigorena S. Cross-presentation in mouse and human dendritic cells. *Adv Immunol*. 2015;127:1–31.

Apresentação Antigênica "Não Clássica"

Adams EJ, Luoma AM. The adaptable major histocompatibility complex (MHC) fold: structure and function of nonclassical and MHC class I-like molecules. *Annu Rev Immunol*. 2013;31:529–561.

Cohen NR, Garg S, Brenner MB. Antigen presentation by CD1: lipids, T cells, and NKT cells in microbial immunity. *Adv Immunol*. 2009;102:1–94.

Van Rhijn I, Godfrey DI, Rossjohn J, Moody DB. Lipid and small-molecule display by CD1 and MR1. *Nat Rev Immunol*. 2015;15:643–654.

CAPÍTULO 7

Receptores Imunológicos e a Transdução de Sinais

VISÃO GERAL DA TRANSDUÇÃO DE SINAL
- Proteínas e Adaptadores de Sinalização Modular
- Polimerização e Sinalização do Tipo Príon

FAMÍLIA DOS RECEPTORES IMUNOLÓGICOS
- Características Gerais da Sinalização dos Receptores Antigênicos

COMPLEXO RECEPTOR E A SINALIZAÇÃO DE CÉLULAS T
- Estrutura do Receptor Antigênico das Células T
- Iniciação do Sinal pelo Receptor das Células T
- Papel dos Correceptores CD4 e CD8 na Ativação das Células T
- Ativação de Tirosina Quinases e de Quinases Lipídicas durante a Ativação das Células T
- Recrutamento e Modificação de Proteínas Adaptadoras
- Formação da Sinapse Imunológica
- Vias de Sinalização da Proteína Quinase Ativada por Mitógeno em Linfócitos T
- Vias de Sinalização Mediadas por Cálcio e Proteína Quinase C em Linfócitos T
- Ativação de Fatores de Transcrição que Regulam a Expressão Gênica das Células T
- Modulação da Sinalização da Célula T por Tirosina Fosfatases Proteicas
- Sinalização de Receptores Coestimuladores nas Células T

Alterações Metabólicas durante a Ativação das Células T

O COMPLEXO RECEPTOR ANTIGÊNICO DO LINFÓCITO B
Estrutura do Receptor Antigênico das Células B
Iniciação do Sinal pelo Receptor das Células B
Papel do Receptor do Complemento CR2/CD21 como Correceptor das Células B
Vias de Sinalização Downstream ao Receptor das Células B

ATENUAÇÃO DA SINALIZAÇÃO DOS RECEPTORES IMUNOLÓGICOS
Receptores Inibidores das Células Natural Killer, Células B e Células T
Degradação Ubiquitina-Dependente de Proteínas Sinalizadoras

RECEPTORES DE CITOCINA E SINALIZAÇÃO
Classes de Receptores de Citocinas
Sinalização por Janus Quinases, Transdutores de Sinal e Ativadores de Transcrição
Vias de Ativação do NF-κB

RESUMO

A ideia de que as células têm receptores de superfície específicos que podem ser ativados por ligantes externos se originou de um dos fundadores da Imunologia moderna. Paul Ehrlich, em sua "teoria da cadeia lateral" publicada em 1897, concebeu os anticorpos na superfície das células imunes, que reconhecem os antígenos e instruem a célula imune a liberar mais do mesmo anticorpo. Os receptores de superfície celular para hormônios foram descobertos muitas décadas mais tarde, na segunda metade do século XX, mas bem antes da identificação dos receptores antigênicos em linfócitos no início dos anos 1980.

Os receptores de superfície celular atuam em várias funções essenciais, incluindo a indução da sinalização intracelular que leva à ativação celular, à adesão célula-célula ou célula-matriz extracelular, e à

internalização de moléculas e células extracelulares. A transdução do sinal refere-se amplamente às vias bioquímicas intracelulares que são ativadas nas células após a ligação dos ligantes a receptores específicos. A maioria, mas não todos os receptores de sinalização, está localizadas na membrana plasmática. A sinalização iniciada por esses receptores tipicamente envolve uma fase citosólica inicial, quando a porção citoplasmática do receptor ou de proteínas que interagem com o receptor pode ser modificada enzimaticamente. Isso com frequência leva à ativação ou translocação nuclear de fatores de transcrição que estão latentes nas células em repouso, seguida de uma fase nuclear quando os fatores de transcrição orquestram alterações na expressão gênica (Fig. 7.1). Algumas vias de transdução de sinal estimulam a motilidade celular ou ativam a exocitose de grânulos do citoplasma sem nenhuma alteração na expressão gênica. A transdução de sinal pode resultar em diferentes consequências para a célula, incluindo a aquisição de novas funções, a indução de diferenciação, o comprometimento com uma linhagem específica, a proteção contra a morte celular, a iniciação de respostas proliferativas e de crescimento, e a indução de atraso no ciclo celular ou de morte por apoptose.

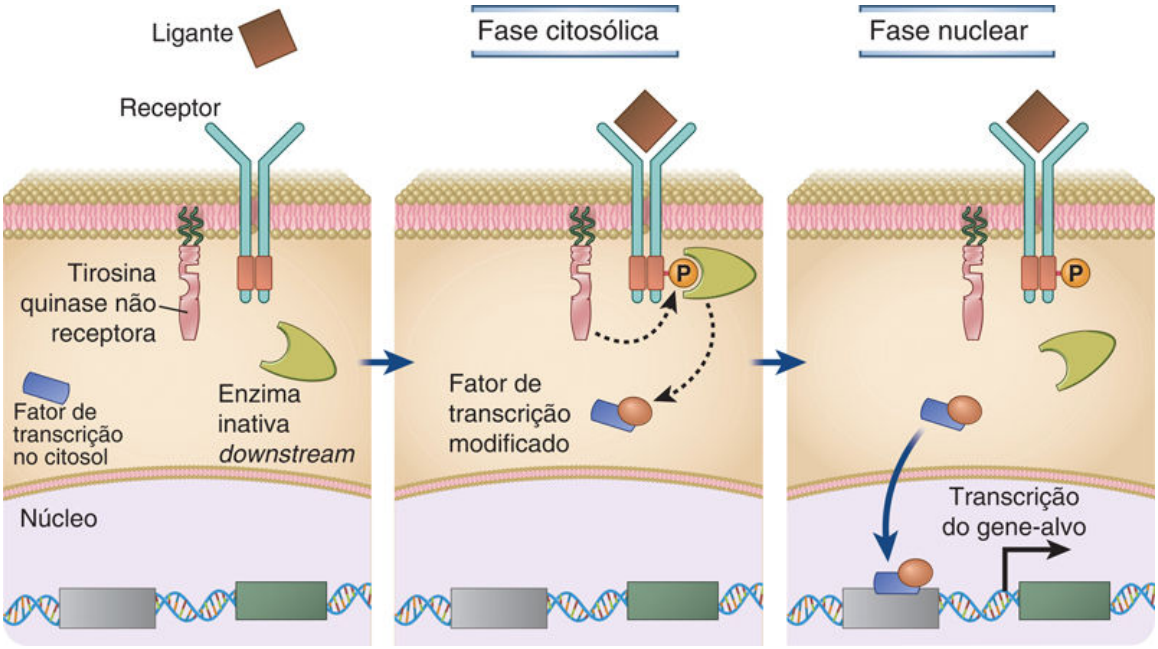


FIGURA 7.1 A sinalização originada na superfície celular envolve fases citosólicas e nucleares.
Um receptor genérico que ativa uma tirosina quinase não receptora após sua ligação ao ligante é mostrado. Na fase de sinalização citosólica, a quinase não receptora fosforila um resíduo-chave de tirosina na cauda citoplasmática do receptor e, como resultado, a cauda do receptor contendo fosfotirosina consegue recrutar uma enzima *downstream* que é ativada quando recrutada. Na fase citosólica, essa enzima *downstream* ativada modifica de maneira pós-traducional um fator de transcrição específico localizado no citoplasma. Nesse exemplo simplificado, a fase citosólica tem apenas um único evento enzimático, mas na verdade muitas vias de transdução de sinal envolvem múltiplos passos. Na fase nuclear, esse fator de transcrição modificado entra no núcleo e induz a expressão de genes-alvo que têm um sítio de ligação no promotor ou em alguma outra região reguladora que pode se ligar a este fator de transcrição modificado e facilitar a transcrição.

Os receptores antigênicos nos linfócitos B e T estão entre as máquinas de sinalização mais sofisticadas conhecidas e serão grande parte do foco deste capítulo. Forneceremos uma visão geral ampla da transdução de sinal, seguida por uma discussão da sinalização mediada por receptores antigênicos distribuídos clonalmente em linfócitos. Durante a discussão sobre os receptores antigênicos nas células T e B, examinaremos o papel de outros receptores, incluindo os chamados correceptores e outros referidos como receptores coestimuladores, os quais facilitam ou aumentam a ativação de linfócitos pelo receptor antigênico. Também discutiremos o

papel de receptores inibidores em células T, B e *natural killer* (NK) e consideraremos diferentes categorias de receptores de citocinas e mecanismos de transdução de sinal iniciados por esses receptores. Finalmente, para ilustrar os passos da ativação de um fator de transcrição prototípico, examinaremos a via que leva à ativação de NF-κB, um fator de transcrição relevante tanto para a imunidade inata quanto para a imunidade adaptativa.

Visão Geral da Transdução de Sinal

Os receptores que iniciam as respostas de sinalização são geralmente proteínas integrais de membrana presentes na membrana plasmática, onde seus domínios extracelulares reconhecem ligantes solúveis secretados ou estruturas que estão ligadas à membrana plasmática de uma célula vizinha ou à matriz extracelular. Outra categoria de receptores, os receptores nucleares, são fatores de transcrição intracelulares ativados por ligantes lipossolúveis que podem atravessar a membrana plasmática.

A iniciação da sinalização de um receptor da superfície celular pode necessitar do agrupamento ligante-induzido das proteínas do receptor, chamado ligação cruzada, ou pode envolver uma alteração conformacional do receptor induzida pela sua associação ao ligante. Ambos os mecanismos de iniciação do sinal tipicamente resultam na criação de uma nova forma geométrica na porção citosólica do receptor que promove interações com outras moléculas sinalizadoras.

Um evento inicial comum na transdução de sinal é a adição enzimática de um resíduo de fosfato à cadeia lateral de uma tirosina, serina ou treonina, na porção citosólica de um receptor ou de uma proteína adaptadora. As enzimas que adicionam grupos fosfato nas cadeias laterais de aminoácidos são chamadas de **proteínas quinases**. Muitos dos eventos de iniciação na sinalização dos linfócitos dependem de proteínas quinases que fosforilam resíduos de tirosina específicos e estas enzimas são, portanto, chamadas **tirosina quinases proteicas**. Outras proteínas quinases que estão envolvidas nas distintas vias de sinalização são serina/treonina quinases, as quais fosforilam resíduos de serina ou treonina. Algumas enzimas ativadas *downstream* a sinalização de receptores fosforilam substratos lipídicos e são, portanto, conhecidas como **quinases lipídicas**. Para cada categoria do evento de fosforilação, há fosfatases específicas — enzimas que podem remover resíduos fosfato e assim modular a sinalização. Essas fosfatases têm um papel importante, geralmente inibidor, na transdução de sinal.

A fosforilação de proteínas não é a única modificação pós--traducional que controla a transdução de sinal. Muitas outras modificações podem facilitar os eventos de sinalização. Um tipo de modificação que descreveremos adiante neste capítulo é a adição covalente de moléculas de ubiquitina que tanto marcam proteínas para a degradação quanto direcionam a transdução de sinal em muitas células, incluindo os linfócitos. Muitas proteínas sinalizadoras importantes são modificadas

pela adição de lipídeos que podem ajudar a localizá-las para uma região especializada da membrana plasmática, de modo que elas interajam de forma eficiente com outras moléculas de sinalização que também são direcionadas para esse microdomínio da membrana. Alguns fatores de transcrição são funcionalmente modificados por acetilação, e as caudas *N*-terminais das histonas podem ser acetiladas e metiladas a fim de modular a expressão gênica, a replicação do DNA e os eventos de recombinação do DNA.

Os receptores celulares estão agrupados em várias categorias com base nos mecanismos de sinalização que utilizam e nas vias bioquímicas intracelulares que ativam (Fig. 7.2):

- Alguns receptores utilizam **tirosina quinases não receptoras**. As caudas citoplasmáticas dos polipeptídeos de ligação ao ligante desses receptores não possuem atividade catalítica intrínseca, mas uma tirosina quinase intracelular separada, conhecida como uma tirosina quinase não receptora, que participa da ativação do receptor pela fosforilação de motivos específicos no receptor ou em outras proteínas associadas ao receptor (Fig. 7.1). Uma família de receptores chamados receptores imunológicos, alguns dos quais reconhecem antígenos enquanto outros reconhecem as porções Fc de anticorpos, usam tirosina quinases não receptoras para iniciar a sinalização. Além da família de receptores imunes, alguns receptores de citocinas, discutidos mais adiante neste capítulo, utilizam tirosina quinases não receptoras. As integrinas, receptores de adesão essenciais ao sistema imune, também sinalizam por meio da ativação de tirosina quinases não receptoras.
- As **tirosina quinases receptoras (RTKs, do inglês *receptor tyrosine kinases*)** são proteínas integrais de membrana que ativam um ou mais domínios tirosina quinase intrínsecos localizados na cauda citoplasmática dos receptores, quando estes formam ligações cruzadas com ligantes extracelulares multivalentes. Um exemplo de uma RTK relevante para a formação de células sanguíneas é a proteína c-Kit. Outros exemplos de RTKs incluem o receptor de insulina, o receptor do fator de crescimento epidérmico e o receptor do fator de crescimento derivado de plaquetas.
- Os **receptores nucleares** tipicamente estão localizados ou migram para o núcleo, onde atuam como fatores de transcrição. A ligação de um ligante lipossolúvel ao seu receptor nuclear resulta na

capacidade deste último de induzir a transcrição ou reprimir a expressão gênica. Os receptores hormonais nucleares, tais como o receptor de vitamina D e o receptor de glicocorticoide, podem influenciar eventos que vão desde o desenvolvimento do sistema imune até a expressão de genes de citocinas.

- Os **receptores acoplados à proteína G (GPCRs, do inglês *G protein-coupled receptors*)** são receptores que funcionam através da ativação de proteínas ligantes de GTP (proteínas G). São polipeptídeos que atravessam a membrana plasmática sete vezes e, por esse motivo, são chamados muitas vezes de receptores serpentina ou receptores sete-transmembrana. A mudança conformacional induzida pela ligação do ligante nesse tipo de receptor permite a ativação de uma proteína G heterotrimérica associada, por meio da troca do GDP ligado pelo GTP. A proteína G ativada inicia os eventos de sinalização *downstream*. Exemplos dessa categoria de receptores que são relevantes à imunidade e à inflamação incluem os receptores para leucotrienos, prostaglandinas, histamina, fragmentos C3a e C5a do complemento, peptídeos formil bacterianos, esfingosina-1-fosfato e todas as quimiocinas (Capítulo 3). Diferentes tipos de proteínas G ligadas à GPCRs distintas podem ativar ou inibir diferentes efetores *downstream*. Duas enzimas principais que ativam os GPCRs são a adenilato ciclase, que converte o ATP na molécula efetora AMPc, capaz de ativar numerosas respostas celulares, e a fosfolipase C, que também desencadeia múltiplos sinais, como discutido adiante.
- **Outras classes de receptores** têm sido conhecidas pela importância no desenvolvimento embrionário e em certos tecidos maduros, e suas funções no sistema imune começaram a surgir mais recentemente. Os receptores proteicos da família **Notch** estão envolvidos no desenvolvimento de uma grande variedade de espécies. A associação de ligantes específicos aos receptores desta família leva à clivagem proteolítica do receptor e à translocação nuclear do domínio citoplasmático clivado (Notch intracelular), o qual funciona como um componente de um complexo de transcrição. As proteínas Notch contribuem para a determinação do destino celular durante o desenvolvimento de linfócitos (Capítulo 8) e também podem influenciar a ativação de linfócitos maduros. Um grupo de ligantes denominados proteínas **Wnt** pode influenciar a linfopoiese. (Os nomes de muitas proteínas

envolvidas na sinalização são frequentemente baseados em como eles foram descobertos e não refletem suas funções, por isso usaremos as abreviações comumente aceitas e não listaremos seus nomes completos.) A sinalização através de receptores transmembrana para essas proteínas pode aumentar os níveis de β-catenina, a qual entra no núcleo e ativa fatores de transcrição que contribuem para o desenvolvimento das células B e T, como discutido no Capítulo 8. Vários outros receptores e vias de sinalização descobertos inicialmente em populações de células não imunes estão agora sendo estudados no contexto da biologia dos linfócitos. Não tentaremos descrever detalhadamente todas essas vias neste capítulo

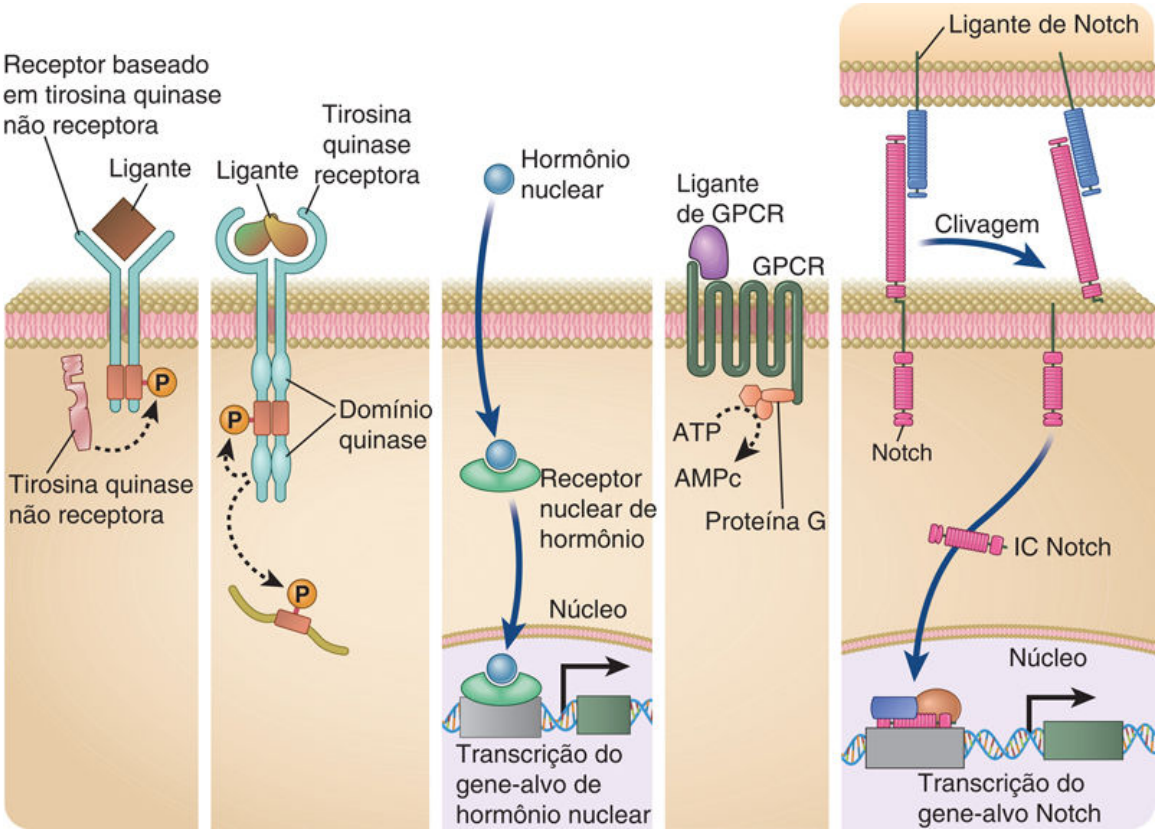


FIGURA 7.2 Principais categorias de receptores de sinalização no sistema imune.
Aqui estão representados um receptor que usa uma tirosina quinase não receptora, uma tirosina quinase receptora, um receptor nuclear que se liga ao seu ligante e pode então influenciar a transcrição, um receptor transmembrana de sete alças acoplado à proteína G (GPCR) e Notch, que reconhece um ligante numa célula distinta e é clivado, produzindo um fragmento intracelular (IC Notch) que pode entrar no núcleo e influenciar a transcrição de genes-alvo específicos. *GPCR*, receptor acoplado à proteína G; *AMPc*, AMP cíclico.

Proteínas e Adaptadores de Sinalização Modular

As moléculas de sinalização são muitas vezes compostas por módulos distintos, cada qual com uma função específica de ligação ou catálise. O conceito de moléculas de sinalização modular tem sido ilustrado pelo estudo das tirosina quinases não receptoras. O homólogo celular da proteína de transformação do vírus do sarcoma de Rous, chamado c-Src, é o protótipo de uma família imunologicamente importante de tirosina quinases não receptoras conhecida como **quinases da família Src**. A c-Src

contém diversos domínios distintos, dois dos quais chamados domínios **Src homologia 2** (SH2) e **Src homologia 3** (SH3), que medeiam a ligação a outras proteínas de sinalização. A c-Src também contém um domínio tirosina quinase catalítico e um domínio lipídico *N*-terminal adicional que facilita a adição covalente de uma molécula de ácido mirístico à proteína. O miristato auxilia o direcionamento das quinases da família Src para a membrana plasmática. As estruturas modulares das quinases da família Src, assim como de duas outras famílias de tirosina quinases discutidas posteriormente que são importantes para o sistema imune, estão representadas na Figura 7.3.

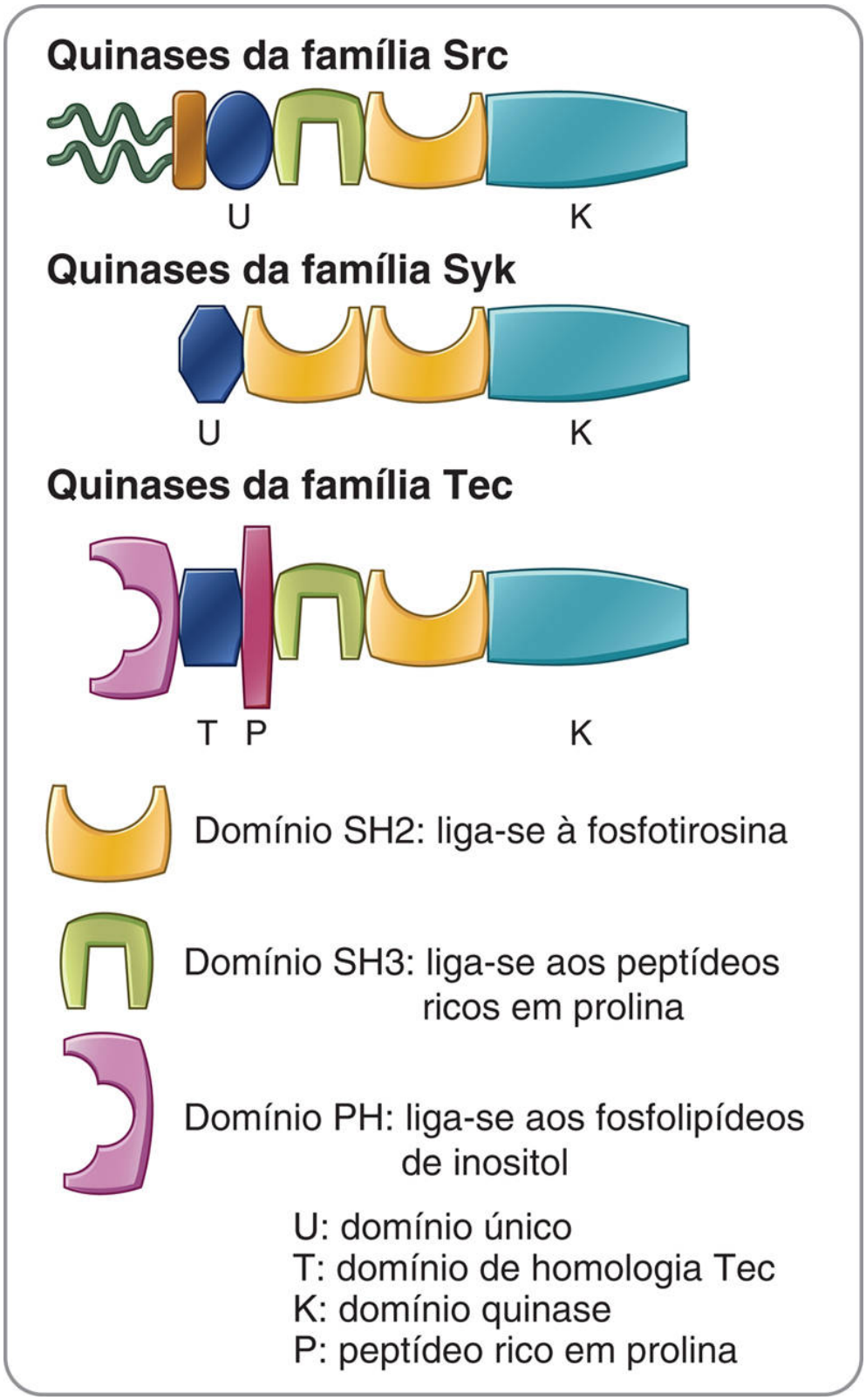


FIGURA 7.3 Estrutura modular de tirosina quinases que influenciam a ativação de linfócitos.
Os módulos incluem domínios SH2 que se ligam a polipeptídeos

específicos contendo fosfotirosina, domínios SH3 que reconhecem trechos polipeptídicos ricos em prolina, domínios PH que reconhecem PIP3 ou outros lipídeos derivados de fosfatidilinositol, e domínios de homologia Tec encontrados em tirosina quinases da família Tec. As famílias de tirosina quinases representadas são as quinases da família Src, que incluem c-Src, Lyn, Fyn e Lck; as quinases da família Syk, que incluem a Syk e ZAP-70; e as quinases da família Tec, que incluem Tec, Btk e Itk. *PH*, homologia a plecstrina; *SH*, Src homologia.

Os domínios SH2 são compostos por cerca de 100 aminoácidos dobrados em uma conformação particular e se ligam a peptídeos contendo fosfotirosina em certas proteínas. Na sinalização do receptor antigênico, as quinases da família Src fosforilam resíduos de tirosina presentes em motivos particulares nas caudas citoplasmáticas de proteínas que fazem parte do complexo receptor (descrito adiante). Esses motivos de fosfotirosina no complexo receptor antigênico então funcionam como sítios de ligação para os domínios SH2 presentes em tirosina quinases da família Syk, tais como Syk e ZAP-70 (Fig. 7.3). O recrutamento de uma quinase da família de Syk para um receptor antigênico por meio da interação específica de um domínio fosfotirosina de SH2 é um passo essencial na ativação do linfócito induzida pelo antígeno. Os domínios SH3 também têm cerca de 100 aminoácidos de comprimento e auxiliam a mediação de interações proteína-proteína pela ligação de trechos ricos em prolina, mas não fosforilados, em certas proteínas. Outro tipo de domínio modular, chamado domínio de homologia a plecstrina (PH), pode reconhecer fosfolipídeos específicos. Os domínios PH em diversas moléculas sinalizadoras, incluindo a tirosina quinase Btk da família TEC, reconhecem o fosfatidilinositol trifosfato (PIP3), uma porção lipídica presente na camada interna da membrana plasmática.

As proteínas adaptadoras atuam como eixos moleculares que ligam fisicamente diferentes enzimas e promovem a montagem de complexos de moléculas sinalizadoras. Os adaptadores podem ser proteínas integrais de membrana, tais como LAT (do inglês *linker for the activation of T cells*) (Fig. 7.4), ou podem ser proteínas citosólicas, tais como BLNK (do inglês, *B cell linker*), SLP-76 (do inglês, *SH2 domain-containing linker protein of 76 kD*), e GADS (do inglês, *Grb-2-related adaptor protein downstream of Shc*). Um adaptador típico deve conter alguns domínios específicos que medeiam as interações proteína-proteína, tais como os domínios SH2 e SH3, dentre outros (existem muito mais tipos de domínios modulares não mencionados aqui). Os adaptadores frequentemente contêm alguns

trechos ricos em prolina que podem se ligar a outras proteínas contendo os domínios SH3 e normalmente também contêm resíduos de tirosina que podem ser fosforilados pelas tirosina quinases e funcionam como sítios de ancoragem para outras moléculas de sinalização. Os resíduos de aminoácidos que estão próximos a um motivo de tirosina fosforilada determinam quais domínios SH2 específicos podem se ligar a esse sítio. Por exemplo, uma tirosina quinase pode fosforilar um motivo YxxM (onde Y representa tirosina, M representa metionina e x refere-se a qualquer aminoácido) em uma proteína adaptadora, e isso permitirá a ligação de um domínio SH2 à quinase lipídica fosfatidilinositol-3-quinase (PI3-quinase). Um trecho rico em prolina na mesma proteína adaptadora pode se ligar a um domínio SH3 em uma tirosina quinase distinta. Assim, a fosforilação da tirosina do adaptador pode resultar em uma tirosina quinase e a PI3-quinase sendo assentadas uma próxima da outra, tendo como consequência a fosforilação e ativação da PI3-quinase. A transdução do sinal pode, portanto, ser visualizada como uma espécie de "fenômeno das redes sociais". Um sinal inicial (fosforilação da tirosina, por exemplo) resulta em proteínas sendo aproximadas umas das outras para certos eixos indicados (adaptadores), resultando na ativação de enzimas específicas que, eventualmente, influenciam a localização nuclear ou atividade de fatores de transcrição específicos *downstream*, ou ainda induzem outros eventos celulares, tais como a polimerização de actina.

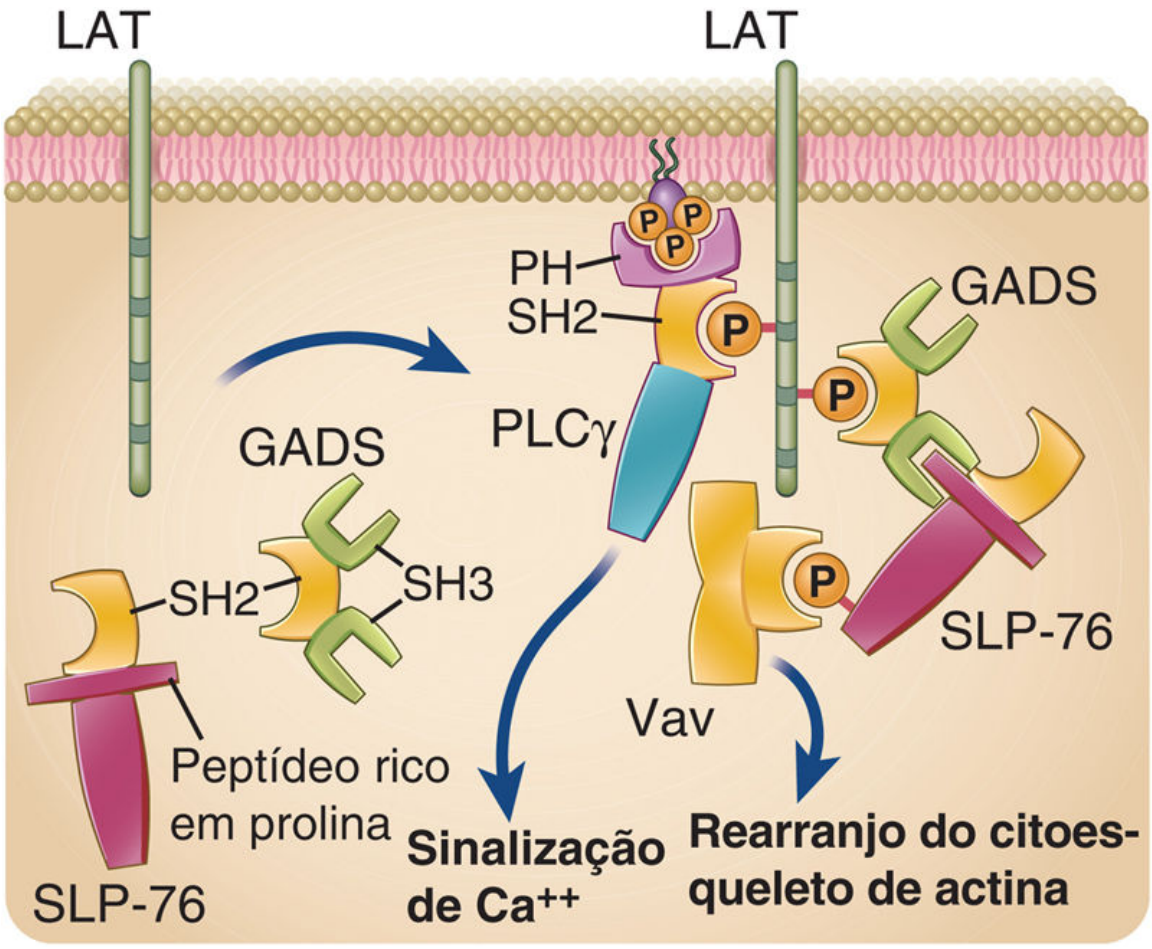


FIGURA 7.4 Adaptadores selecionados que participam da ativação de linfócitos.
À esquerda, LAT, uma proteína integral de membrana que funciona como um adaptador, e dois adaptadores citosólicos, GADS e SLP-76, são mostrados em uma célula T não ativada. À direita, após a ativação da célula T, LAT é fosforilada em sua tirosina e recruta a PLCγ (a qual se liga simultaneamente ao fosfolipídeo da membrana fosfatidilinositol trifosfato, ou PIP3) e o adaptador GADS, ambos contendo domínios SH2. Uma sequência de aminoácidos rica em prolina na SLP-76 associa-se a um domínio SH3 de GADS, e a SLP-76 com suas tirosinas fosforiladas recruta a Vav. *LAT*, do inglês *linker for the activation of T cells*; *PH*, homologia a plecstrina; *SH*, Src homologia.

Polimerização e Sinalização do Tipo Príon

Uma forma não usual de propagação de sinal no sistema imune foi descoberta com base no conhecimento sobre doenças neurodegenerativas causadas por príons, que são proteínas anormais capazes de propagar

alterações conformacionais a outras moléculas da mesma proteína. As proteínas príon existem em uma conformação de α-hélice solúvel que então se dobra erroneamente formando agregados ricos em β-folha. Esses agregados catalisam a alteração conformacional de outras moléculas com a conformação original de α-hélice solúvel na configuração β-folha. Esse mecanismo subjacente de uma proteína solúvel sendo conformacionalmente alterada em uma fibra autopropagável que catalisa a alteração conformacional e o recrutamento de mais moléculas solúveis da proteína original é usada na sinalização da imunidade inata. Dois exemplos são a proteína ASC nos inflamassomas NLRP3, e a MAVS na via de RIG-I (Capítulo 4); ambas, ASC e MAVS, atuam como príons clássicos. A formação de fibras ASC direciona a formação do inflamassoma NLRP3 e produção de IL-1, enquanto a formação da fibra MAVS após a ligação de dsRNA à RIG-I direciona a produção de interferon do tipo I em resposta aos ácidos nucleicos virais.

Família dos Receptores Imunológicos

Os receptores imunológicos são uma família única de complexos receptores, tipicamente composta de proteínas integrais de membrana da superfamília de imunoglobulinas (Ig) que estão envolvidos no reconhecimento do ligante, associado a outras proteínas transmembrana de sinalização que possuem motivos únicos contendo tirosina em suas caudas citoplasmáticas. Enquanto os componentes da sinalização geralmente são proteínas separadas daquelas envolvidas no reconhecimento do ligante, em alguns membros da família, o receptor é constituído por uma única cadeia no qual o domínio extracelular está envolvido no reconhecimento do ligante e a cauda citoplasmática contém resíduos de tirosina que contribuem para a sinalização. As proteínas de sinalização da família de receptores imunológicos estão frequentemente posicionadas próximas às tirosina quinases não receptoras da família Src, as quais possuem âncoras lipídicas N-terminais, que as fixam à camada interna da membrana plasmática.

Os motivos citoplasmáticos contendo tirosina nas proteínas de sinalização da família de receptores imunológicos são geralmente de dois tipos diferentes, um sendo motivo de ativação e outro de inibição. **Motivos de ativação baseados na tirosina do imunorreceptor (ITAMs, do inglês *immunoreceptor tyrosine-based activation motifs*)** são encontrados em receptores envolvidos na ativação celular e têm a sequência YxxL/I$(x)_{6-8}$YxxL/I, onde Y representa um resíduo de tirosina, L representa leucina, I representa isoleucina e x refere-se a qualquer aminoácido. Ambos os resíduos de tirosina nos motivos ITAM podem ser fosforilados por quinases da família Src quando os receptores imunológicos são ativados. Os ITAMs com tirosina fosforilada recrutam uma tirosina quinase da família Syk/ZAP-70, a qual contém domínios SH2 em sequência que se ligam a cada um dos dois motivos YxxL/I fosforilados de ITAM. A ligação das quinases Syk ou ZAP-70 a um ITAM fosforilado provoca uma mudança conformacional que ativa a quinase, levando a eventos adicionais de sinalização que direcionam a ativação de células imunes. Alguns receptores imunológicos inibem respostas celulares e as cadeias de sinalização nestes receptores podem ter um motivo contendo tirosina um pouco diferente, que é chamado de **motivo de inibição baseado na tirosina do imunorreceptor** (**ITIM, do inglês, *immunoreceptor tyrosine-based inhibitory motif*)**, o qual possui a sequência de consenso

V/L/IxYxxL, onde o V refere-se a valina. Os ITIMs fosforilados recrutam tirosina fosfatases ou as fosfatases lipídicas de inositol, enzimas que removem os resíduos fosfato da porção fosfotirosina ou de determinados fosfatos lipídicos e, assim, neutralizam a ativação do receptor imunológico com base no ITAM.

Os membros da família de receptores imunológicos incluem os receptores antigênicos de células B e células T, os receptores Fc em células mieloides e mastócitos, e receptores de ativação e de inibição em células NK, células T e células B (Fig. 7.5). Os receptores imunológicos de ativação normalmente formam complexos com proteínas contendo ITAM envolvidas na transdução de sinal. Essas proteínas de sinalização incluem a cadeia ζ e proteínas CD3 do complexo receptor da célula T (TCR), Igα e Igβ associadas aos receptores antigênicos das células B e componentes de diversos receptores Fc e do receptor ativador NKG2D em células NK (Capítulo 4). Muitos receptores inibidores, incluindo PD-1 em células T, CD22 em células B, FcγRIIB em células B e outras células, e os receptores inibidores das células NK, contêm ITIMs em seus domínios citoplasmáticos.

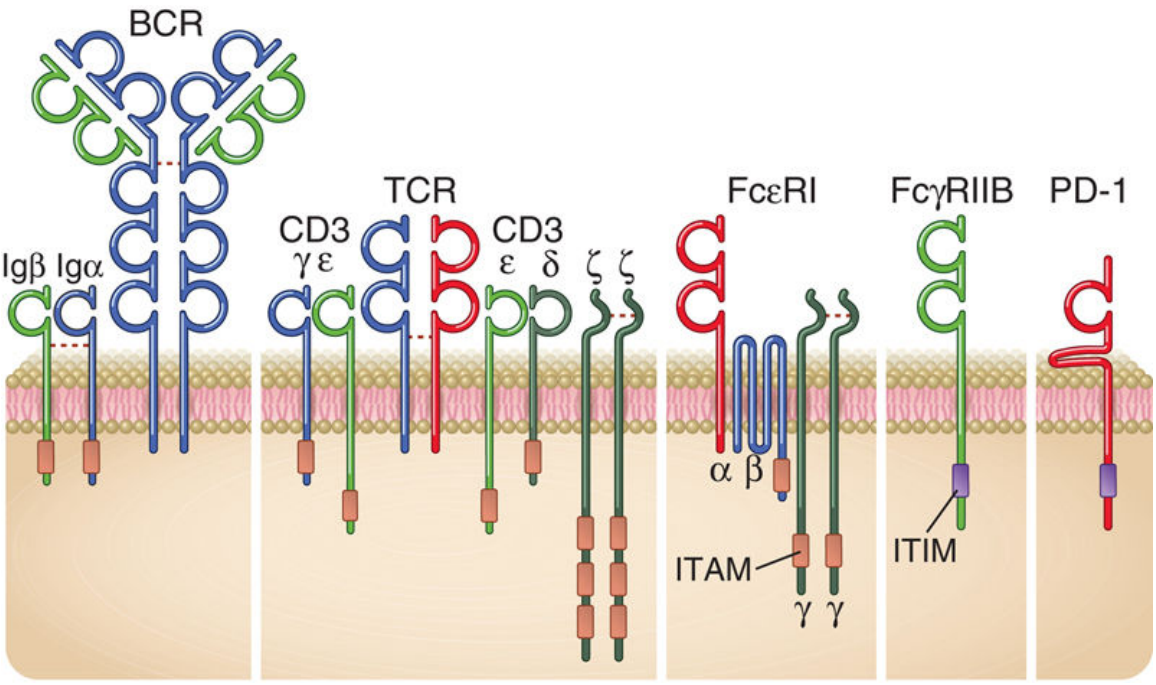


FIGURA 7.5 Membros selecionados da família de receptores imunes.
Cinco membros selecionados da família de receptores imunes estão representados. Tipicamente, receptores imunes que ativam células do sistema imunológico possuem cadeias polipeptídicas separadas para o reconhecimento e cadeias polipeptídicas associadas que contêm ITAMs citosólicos. Os exemplos mostrados aqui incluem o receptor de células B (BCR), o receptor de células T (TCR), e receptor de alta afinidade para IgE (FcεRI). Os receptores inibidores no sistema imunológico tipicamente possuem motivos ITIM na porção citosólica da mesma cadeia que usa o seu domínio extracelular para o reconhecimento do ligante. O FcγRIIB é um receptor inibidor encontrado em células B e células mieloides. O PD-1, um receptor inibidor encontrado em células T, também possui uma troca do motivo com base na imunotirosina (ITSM) em sua cauda citoplasmática (não mostrado).

Características Gerais da Sinalização dos Receptores Antigênicos

A sinalização* downstream *de receptores antigênicos das células T e B é caracterizada por uma sequência semelhante de eventos, consistindo nos seguintes:

- A ligação ao receptor tipicamente envolve o agrupamento de receptores por ligantes multivalentes e resulta na ativação de uma quinase da família Src associada. A ligação ao receptor pode também induzir o desdobramento da cauda citoplasmática de uma cadeia polipeptídica que faz parte do receptor. O evento de desdobramento (ou mudança conformacional) pode permitir que resíduos de tirosina previamente escondidos de um motivo ITAM citosólico se tornem disponíveis para a fosforilação por uma quinase da família Src.
- Uma quinase da família Src ativada, fosforila tirosinas disponíveis nos ITAMs de proteínas sinalizadoras que fazem parte do complexo receptor.
- As duas tirosinas fosforiladas em um único ITAM são reconhecidas por uma tirosina quinase da família Syk que possui domínios SH2 em sequência, cada qual capaz de ligar a uma fosfotirosina do ITAM.
- O recrutamento da tirosina quinase da família Syk para o ITAM fosforilado resulta na ativação dessa quinase e a subsequente fosforilação de tirosina de proteínas adaptadoras e enzimas que ativam distintas vias de sinalização *downstream* do receptor imunológico.

Essa sequência de acontecimentos é descrita em mais detalhes no contexto da sinalização do receptor de células T e células B (BCR, do inglês *B cell receptor*), mais adiante neste capítulo.

As alterações na força de sinalização do TCR e do BCR influenciam as respostas de linfócitos durante seu desenvolvimento e ativação. Em outras palavras, a presença de diferentes números de moléculas de sinalização ativadas induzidas por receptores ligados ao antígeno é interpretada de forma diferente pelos linfócitos. Por exemplo, durante o desenvolvimento dos linfócitos, a sinalização fraca do receptor antigênico é necessária para a sobrevivência de clones expressando receptores funcionais (seleção positiva), enquanto a sinalização forte é necessária para induzir apoptose dos clones com receptores antigênicos autorreativos (seleção negativa).

A sinalização do receptor antigênico é ajustada e modulada por três mecanismos que são exclusivos a essa classe de receptores.

- ***Utilização progressiva do ITAM.*** Uma das maneiras pelas quais as diferentes quantidades de saída do sinal podem ser geradas pelos receptores antigênicos é a fosforilação de diferentes números de

tirosinas dos ITAMs após a ocupação do receptor. O complexo TCR possui seis cadeias de sinalização e dez ITAMs, e um número crescente de ITAMs pode ser fosforilado pela ligação mais forte ou prolongada do antígeno ao TCR. O número de ITAMs fosforilados pode, consequentemente, proporcionar uma interpretação citosólica da afinidade do antígeno que se liga ao TCR, sendo que a afinidade do antígeno pode, assim, influenciar a natureza da resposta celular em diferentes estágios de diferenciação e ativação. O BCR possui apenas dois ITAMs, mas uma vez que esse número aumenta quando múltiplos BCRs se ligam cruzadamente a antígenos multivalentes, o grau de ligações cruzadas realizadas pelos antígenos pode determinar o número de ITAMs que pode ser utilizado e, assim, gerar diferentes respostas a antígenos de diferentes afinidade e valência.

- ***Aumento da ativação celular por correceptores.*** Um **correceptor** é uma proteína de sinalização transmembrana em um linfócito que pode facilitar a ativação do receptor antigênico pela ligação simultânea ao mesmo complexo antigênico que é reconhecido por esse receptor. O correceptor traz consigo enzimas de sinalização ligadas à sua cauda citoplasmática e pode, desse modo, facilitar a fosforilação do ITAM e a ativação do receptor antigênico quando o antígeno se aproxima da vizinhança do receptor antigênico. Os correceptores em células T são as proteínas CD4 e CD8 que delimitam duas subpopulações funcionalmente distintas. O receptor do complemento tipo 2 (CR2/CD21) é o correceptor em células B (Capítulo 12).
- ***Modulação da sinalização por receptores de inibição***. **Receptores de inibição** essenciais em células T incluem CTLA-4 e PD-1, enquanto os receptores de inibição importantes em células B são CD22 e FcγRIIB, entre outros. As funções desses inibidores são discutidas mais adiante neste capítulo

Adicionalmente, os sinais dos receptores antigênicos podem, em algumas circunstâncias, cooperar com os sinais de proteínas chamadas **receptores coestimuladores** que adicionam ainda outro nível de controle ao processo de ativação dos linfócitos. Os receptores coestimuladores fornecem os chamados *segundos sinais* aos linfócitos (o reconhecimento do antígeno fornece o primeiro sinal) e garantem que as respostas imunes sejam otimamente acionadas por patógenos infecciosos e substâncias que mimetizam microrganismos, as quais são os agentes que induzem ou

ativam os coestimuladores (Figs. 4.18 e 9.3). Ao contrário dos correceptores, os receptores coestimuladores não se ligam a componentes dos mesmos ligantes reconhecidos pelos receptores antigênicos. Sinais de saída *downstream* dos receptores coestimuladores são integrados com os sinais derivados do receptor antigênico, e esses grupos de sinais cooperam para a completa ativação dos linfócitos. O protótipo do receptor coestimulador é o CD28 nas células T, o qual é ativado quando ligado pelas moléculas coestimuladoras B7-1 (CD80) e B7-2 (CD86) expressas em células apresentadoras de antígenos (APCs, do inglês, *antigen-presenting cells*).

Complexo Receptor e a Sinalização de Células T

O TCR foi descoberto no início dos anos 1980, por volta da mesma época em que a estrutura do complexo principal de histocompatibilidade (MHC, do inglês, *major histocompatibility complex*) com peptídeos ligados, os ligantes de células T, estavam sendo definidos (Capítulo 6). Essa descoberta ocorreu anos após o receptor antigênico de célula B e os genes de Ig serem caracterizados. Os métodos utilizados para procurar as proteínas do TCR e os genes que as codificam baseavam-se no pressuposto de que seriam semelhantes às proteínas e genes de Ig. Sabemos agora que os TCRs são semelhantes aos anticorpos, mas há diferenças importantes entre esses dois tipos de receptores antigênicos (Tabela 7.1).

Tabela 7.1

Propriedades dos Receptores Antigênicos dos Linfócitos: Receptor de Células T e Imunoglobulinas

	Receptor da Célula T (TCR)	**Imunoglobulina (Ig)**
Componentes	Cadeias α e β (forma mais comum de TCR)	Cadeias pesada e leve
Número de domínios Ig	Um domínio V e um domínio C em cada cadeia	Cadeia pesada: um domínio V, três ou quatro domínios C Cadeia leve: um domínio V e um domínio C
Número de CDRs envolvidos na ligação ao antígeno	Seis (três em cada cadeia)	Seis (três em cada cadeia)
Moléculas de sinalização associadas	CD3 e ζ	Igα e Igβ
Afinidade pelo antígeno (K_d)	10^{-5}-10^{-7} M	10^{-7}-10^{-11} M
Alterações após a Ativação Celular		
Produção de forma secretada	Não	Sim
Troca de isotipo	Não	Sim
Mutações somáticas	Não	Sim

Estrutura do Receptor Antigênico das Células T

O receptor antigênico das células T auxiliares CD4$^+$ e T citotóxicas CD8$^+$ (CTLs) restritas ao MHC é um heterodímero que consiste em duas cadeias polipeptídicas transmembrana, designadas TCR α e β, covalentemente ligadas uma à outra por uma ponte dissulfeto entre os resíduos de cisteína extracelulares (Fig. 7.6). As células T que expressam essa forma de TCR são chamadas de células T $\alpha\beta$. Um tipo menos comum de TCR é composto por cadeias γ e δ de TCR e as células nas quais são expressas são chamadas células T $\gamma\delta$. Cada cadeia de TCR α e β consiste em um domínio N-terminal variável (V) do tipo Ig, um domínio constante (C) do tipo Ig, uma região hidrofóbica transmembrana e uma curta região citoplasmática. Assim, a porção extracelular do heterodímero TCR $\alpha\beta$ é estruturalmente semelhante ao fragmento de ligação ao antígeno (Fab) de uma molécula de Ig, o qual é composto por regiões V e C de uma cadeia leve, e por uma região V e a primeira região C de uma cadeia pesada (Capítulo 5).

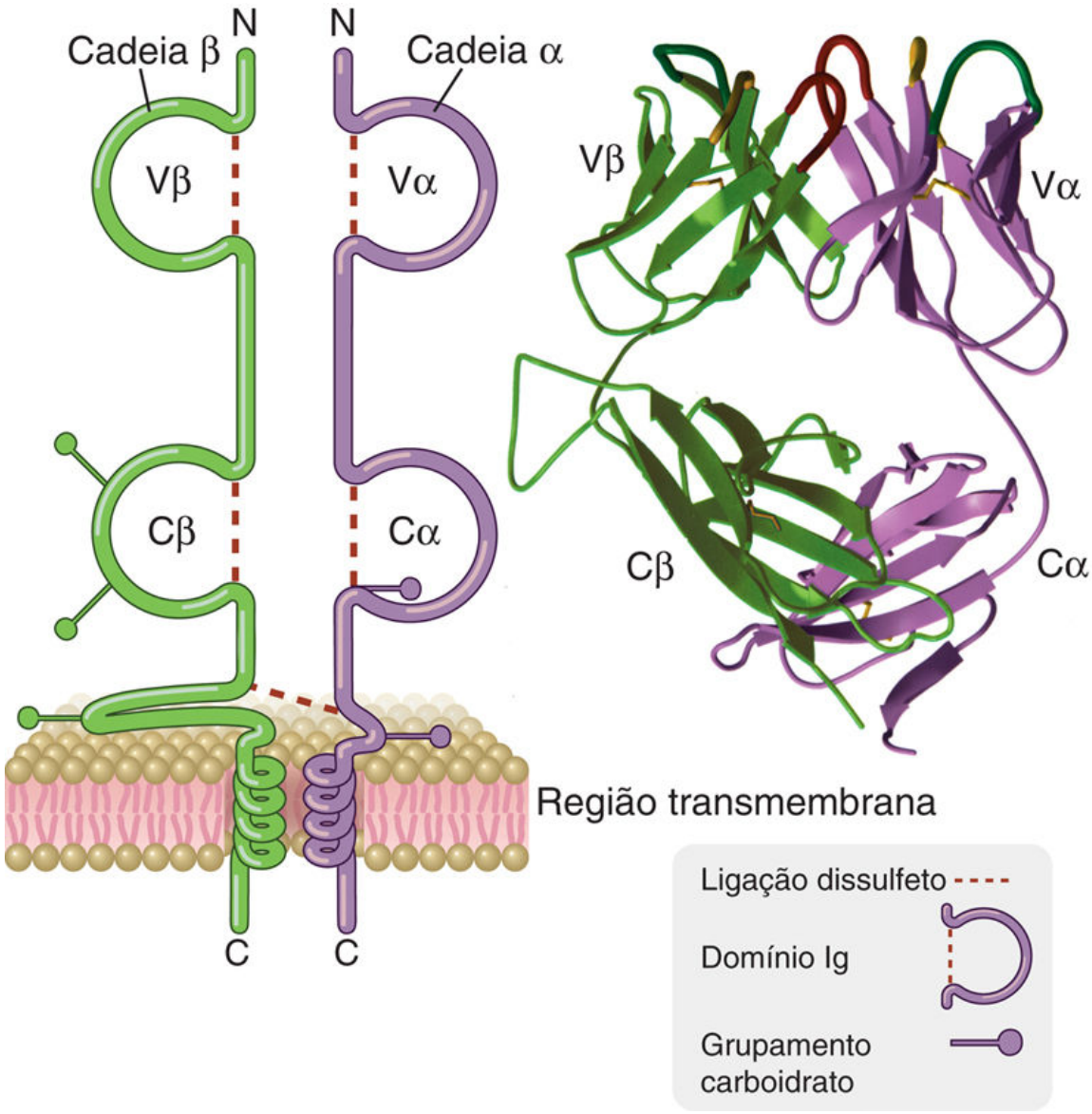


FIGURA 7.6 Estrutura do receptor da célula T.
O diagrama esquemático do TCR αβ (*esquerda*) mostra os domínios de um TCR típico, específico para um complexo peptídeo-MHC. A porção de ligação ao antígeno do TCR é formada pelos domínios Vβ e Vα. O diagrama de fita (*direita*) mostra a estrutura da porção extracelular de um TCR conforme revelado por cristalografia de raios X. As alças dos segmentos hipervariáveis que formam o sítio de ligação peptídeo-MHC estão no topo. (Modificado de Bjorkman PJ: MHC restriction in three dimensions: a view of T cell receptor/ligand interactions, Cell 89:167–170, 1997. Copyright Cell Press.)

As regiões V das cadeias de TCR α e β contêm trechos curtos de aminoácidos nos quais a variabilidade entre diferentes TCRs está concentrada, formando as regiões hipervariáveis ou regiões determinantes

de complementariedade (CDRs, do inglês, *complementarity-determining regions*). Juntos, três CDRs na cadeia α e três regiões similares na cadeia β formam a porção do TCR que reconhece especificamente os complexos peptídeo-MHC (Fig. 7.7). O domínio V da cadeia β contém uma quarta região hipervariável que não participa do reconhecimento antigênico; sua função não está clara. Cada cadeia de TCR, assim como as cadeias pesadas e leves da Ig, é codificada por múltiplos segmentos gênicos que são unidos durante a maturação dos linfócitos T (Capítulo 8).

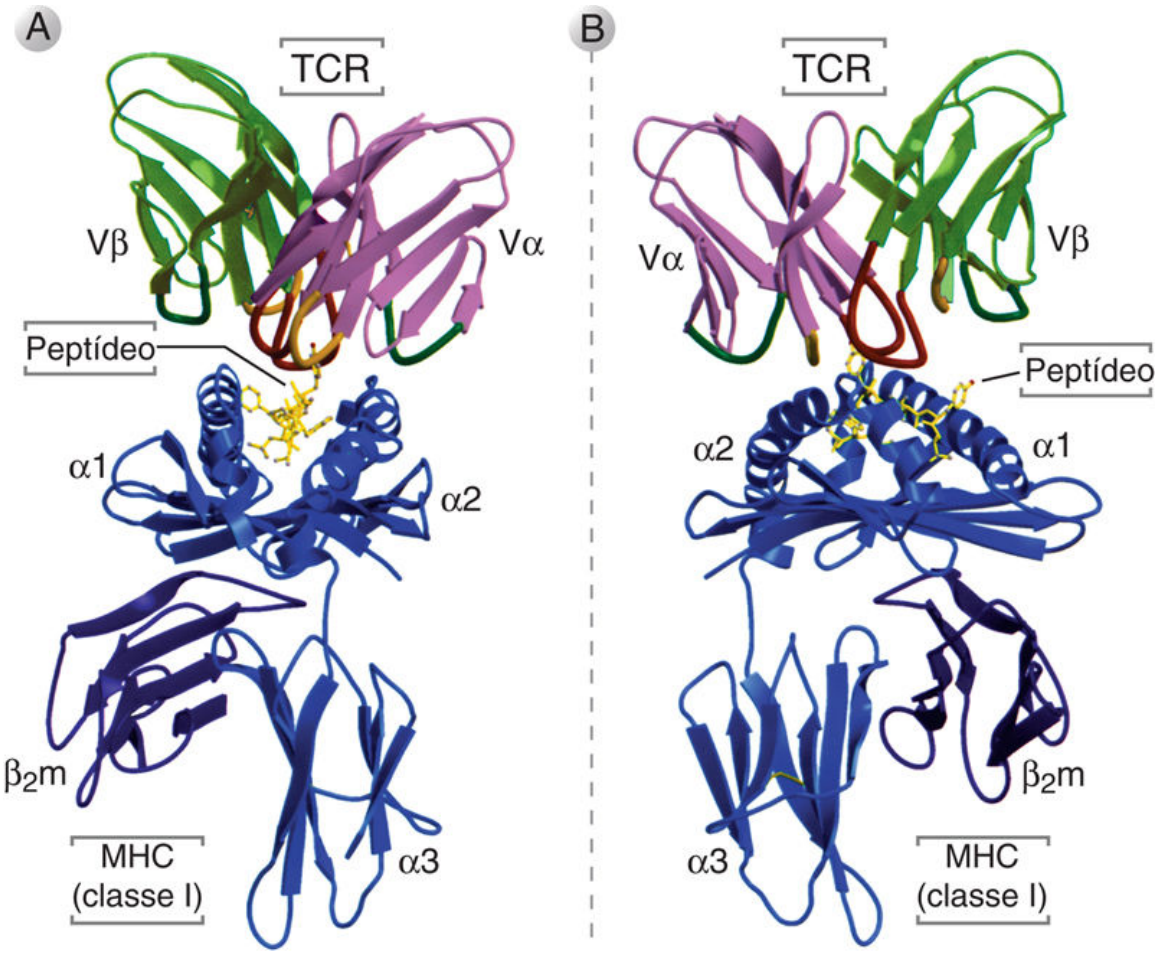


FIGURA 7.7 Ligação de um TCR a um complexo peptídeo-MHC.
Os domínios V de um TCR são mostrados interagindo com uma molécula do MHC de classe I humana, HLA-A2, apresentando um peptídeo viral (*em amarelo*). **A,** É uma vista de frente e **B** é uma vista lateral da estrutura revelada por cristalografia de raios X do complexo trimolecular MHC-peptídeo-TCR. β_2*m,* beta-2 microglobulina. (De Bjorkman PJ: MHC restriction in three dimensions: a view of T cell receptor/ligand interactions, Cell 89:167–170, 1997. Copyright Cell Press.)

As regiões C de ambas as cadeias, α e β, continuam em regiões de dobradiças curtas contendo resíduos de cisteína que contribuem para uma ponte dissulfeto que liga as duas cadeias. Cada dobradiça é seguida por uma porção hidrofóbica transmembrana, uma característica incomum que é a presença de resíduos de aminoácidos carregados positivamente, incluindo um resíduo de lisina (na cadeia α) ou uma lisina e um resíduo de arginina (na cadeia β). Esses resíduos interagem com resíduos carregados negativamente presentes nas porções transmembrana de

outros polipeptídeos (aqueles do complexo CD3 e ζ) que são parte do complexo TCR. Ambas as cadeias de TCR α e β possuem caudas citoplasmáticas carboxiterminais contendo 5 a 12 aminoácidos de comprimento. Como as Ig de membrana nas células B (ver adiante), essas regiões citoplasmáticas são muito curtas para transduzir sinais, e as moléculas fisicamente associadas ao TCR possuem funções transdutoras de sinal desse complexo receptor antigênico.

As proteínas CD3 e ζ estão associadas de forma não covalente ao heterodímero TCR αβ para formar o complexo TCR e quando o TCR reconhece o antígeno, essas proteínas associadas transduzem os sinais que resultam na ativação da célula T. Os componentes do complexo TCR são ilustrados nas Figuras 7.8 e 7.9. As proteínas CD3 e a cadeia ζ são idênticas em todas as células T, independentemente da especificidade, o que é consistente com o seu papel na sinalização e não no reconhecimento antigênico. As proteínas CD3 também são necessárias para a expressão de superfície do complexo receptor completo nas células T.

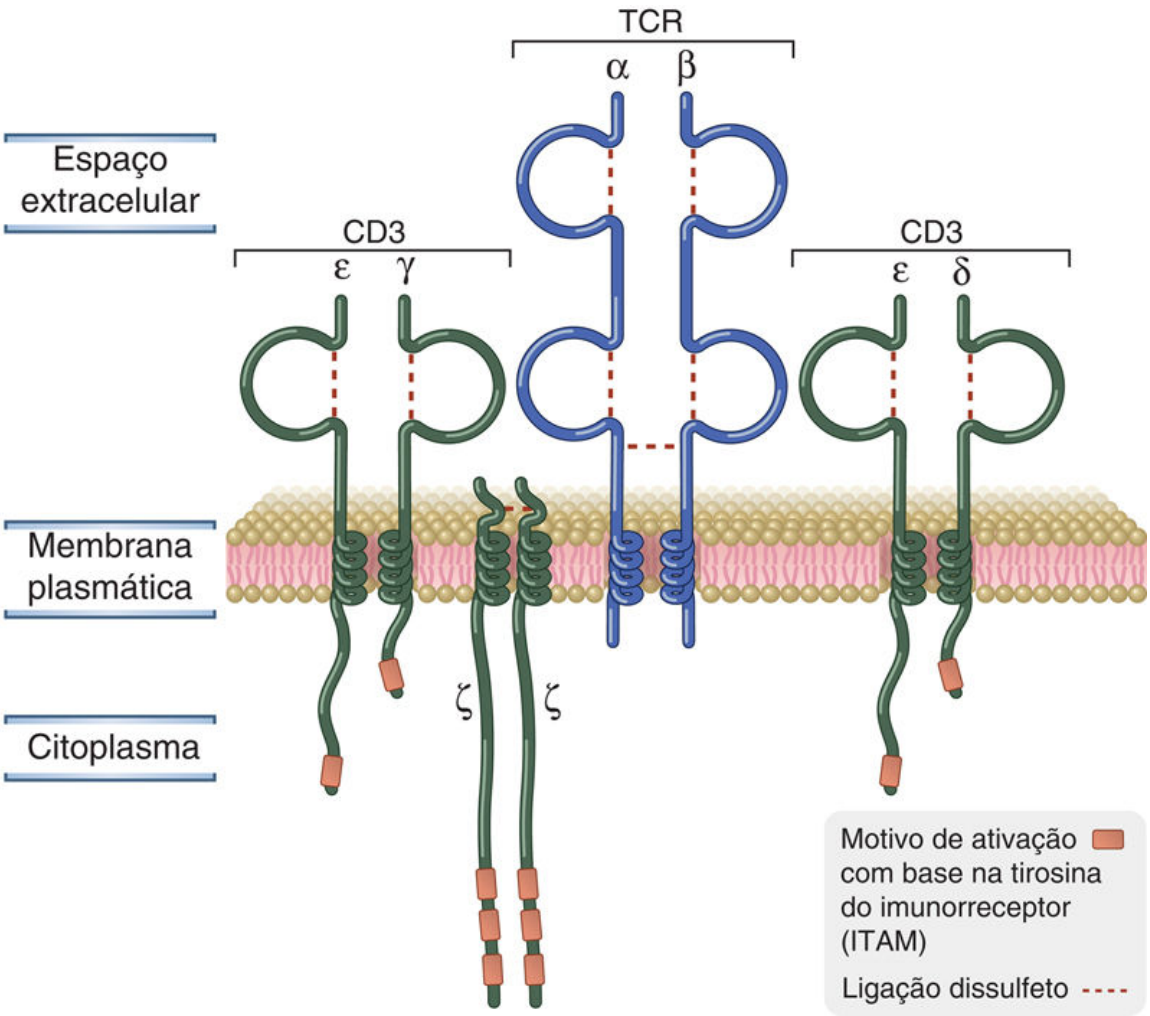
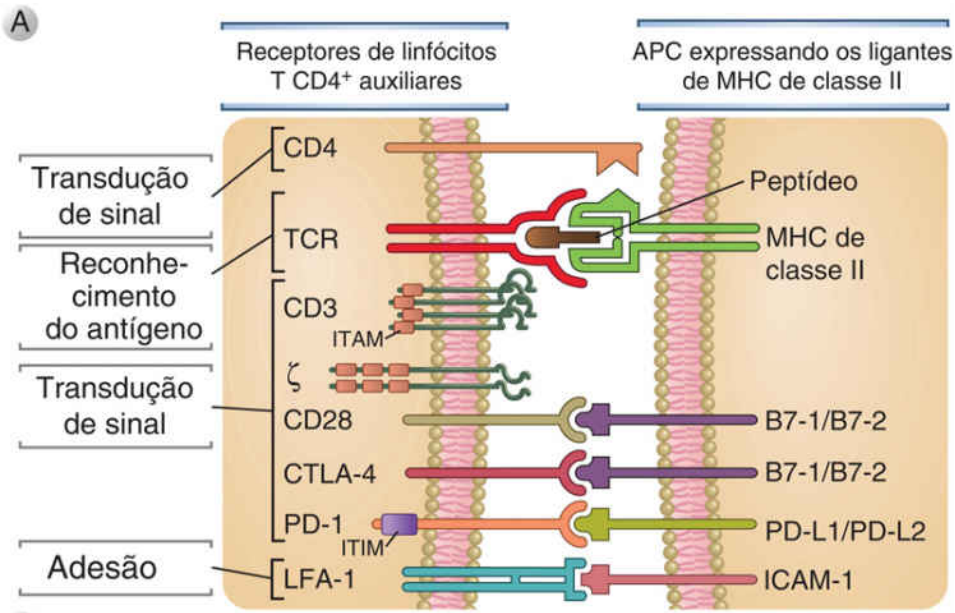


FIGURA 7.8 Componentes do complexo TCR.
O complexo TCR de células T MHC-restritas consiste no TCR αβ não covalentemente ligado ao CD3 e às proteínas ζ. A associação dessas proteínas umas com as outras é mediada por resíduos carregados nas suas regiões transmembrana (*não mostrado*).



B

Molécula da célula T	Função	Ligante	
		Nome	Expresso em
CD3	Transdução de sinal pelo complexo TCR	Nenhum	
ζ	Transdução de sinal pelo complexo TCR	Nenhum	
CD4	Transdução de sinal	MHC de classe II	Células apresentadoras de antígeno
CD8	Transdução de sinal	MHC de classe I	Todas as células nucleadas
CD28	Transdução de sinal (coestimulação)	B7-1/B7-2	Células apresentadoras de antígeno
CTLA-4	Inibição	B7-1/B7-2	Células apresentadoras de antígeno
PD-1	Inibição	PD-L1/PD-L2	Células apresentadoras de antígeno, células teciduais, células tumorais
LFA-1	Adesão	ICAM-1	Células apresentadoras de antígeno, endotélio

FIGURA 7.9 Pares ligante-receptor envolvidos na ativação das células T.

A, As principais moléculas de superfície das células T $CD4^+$

envolvidas na ativação dessas células (os receptores) e as moléculas nas APCs (os ligantes) reconhecidas pelos receptores são mostradas. Células T $CD8^+$ usam a maior parte das mesmas moléculas, exceto que o TCR reconhece os complexos peptídeo-MHC de classe I e o correceptor é CD8, o qual reconhece o MHC de classe I. Os motivos de ativação com base na tirosina do imunorreceptor (ITAMs) são as regiões fosforiladas nos resíduos de tirosina em proteínas sinalizadoras, e tornam-se locais de ancoragem para outras moléculas de sinalização. O CD3 é composto de três cadeias polipeptídicas denominadas γ, δ e ε arranjadas em dois pares (γε e δε) como mostrado na Figura. 7.8; aqui mostramos o CD3 como três cadeias proteicas. Alguns receptores inibidores, tais como PD-1, contêm motivos de inibição baseados na tirosina do imunorreceptor (ITIMs) assim como motivos de "troca" (ITSM, não mostrados). **B,** As moléculas importantes das células T que participam das respostas de ativação ou de inibição aos antígenos, mas que não são receptores antigênicos, são resumidas. *APC,* célula apresentadora de antígeno; *CTLA-4,* antígeno-4 do linfócito T citotóxico; *ICAM-1,* molécula de adesão intercelular 1; *LFA-1,* antígeno 1 associado à função leucocitária; *MHC,* complexo principal de histocompatibilidade; *PD-1,* morte programada-1; *PDL-1/2,* ligantes 1 e 2 de morte programada; *TCR,* receptor de células T.

As proteínas CD3 γ, δ e ε são homólogas entre si. As regiões N-terminais extracelulares das cadeias γ, δ e ε do CD3 contém cada um único domínio do tipo Ig e, por esse motivo, essas três proteínas são membros da superfamília de Ig. Os segmentos transmembrana de todas as três cadeias CD3 contêm um resíduo de ácido aspártico negativamente carregado que se liga a resíduos carregados positivamente nos domínios transmembrana das cadeias α e β do TCR. Cada complexo TCR contém um heterodímero TCR $\alpha\beta$ associado a um heterodímero CD3 $\gamma\varepsilon$, um heterodímero CD3 $\delta\varepsilon$ e um homodímero ζ ligado por pontes dissulfeto.

Os domínios citoplásmicos das proteínas CD3 γ, δ e ε variam de 44 a 81 resíduos de aminoácidos de comprimento e cada um desses domínios contém um ITAM. A cadeia ζ tem uma região extracelular curta de nove aminoácidos, uma região transmembrana contendo um resíduo de ácido aspártico carregado negativamente (semelhante às cadeias CD3) e uma região citoplasmática longa (113 aminoácidos) que contém três ITAMs. A cadeia ζ é normalmente expressa como um homodímero e está associada a receptores de sinalização em outros linfócitos que não as células T, tais como o receptor de Fcγ (FcγRIII) de células NK.

Iniciação do Sinal pelo Receptor das Células T

A ligação dos complexos MHC-peptídeo ao TCR resulta no agrupamento dos correceptores com o receptor antigênico e a fosforilação de resíduos de tirosina do ITAM em proteínas CD3 e ζ. Adicionalmente, o reconhecimento de complexos peptídeo-MHC pelo TCR pode induzir uma mudança conformacional no TCR, tornando os ITAMs associados ao CD3 ou às cadeias ζ disponíveis para a fosforilação de tirosinas pelas quinases da família Src.

Papel dos Correceptores CD4 e CD8 na Ativação das Células T

CD4 e CD8 são correceptores das células T que se ligam às regiões não polimórficas das moléculas do MHC e facilitam a sinalização pelo complexo TCR durante a ativação das células T (Fig. 7.9). Essas proteínas são chamadas de correceptores porque se ligam a moléculas do MHC e, assim, reconhecem uma parte do mesmo ligante (complexos peptídeo-MHC) que interage com o TCR. As células T αβ maduras expressam CD4 ou CD8, mas não ambos. CD8 e CD4 interagem com moléculas do MHC de classe I e de classe II, respectivamente, e são responsáveis pela restrição ao MHC de classe I ou de classe II destas classes de células T (Fig. 7.9 e Capítulo 6).

O CD4 e o CD8 são membros glicoproteicos transmembrana da superfamília de Ig (Fig. 7.10). O CD4 é expresso como um monômero na superfície das células T periféricas e timócitos, e também está presente em níveis mais baixos em fagócitos mononucleares e algumas células dendríticas. O vírus da imunodeficiência humana (HIV) utiliza o CD4 como receptor para ganhar acesso aos linfócitos T e outras células imunes que expressam a molécula. O CD4 possui quatro domínios extracelulares do tipo Ig, uma região transmembrana hidrofóbica e uma cauda citoplasmática altamente básica com 38 aminoácidos de comprimento. Os dois domínios N-terminais do tipo Ig da proteína CD4 ligam-se aos domínios não polimórficos α2 e β2 da molécula do MHC de classe II.

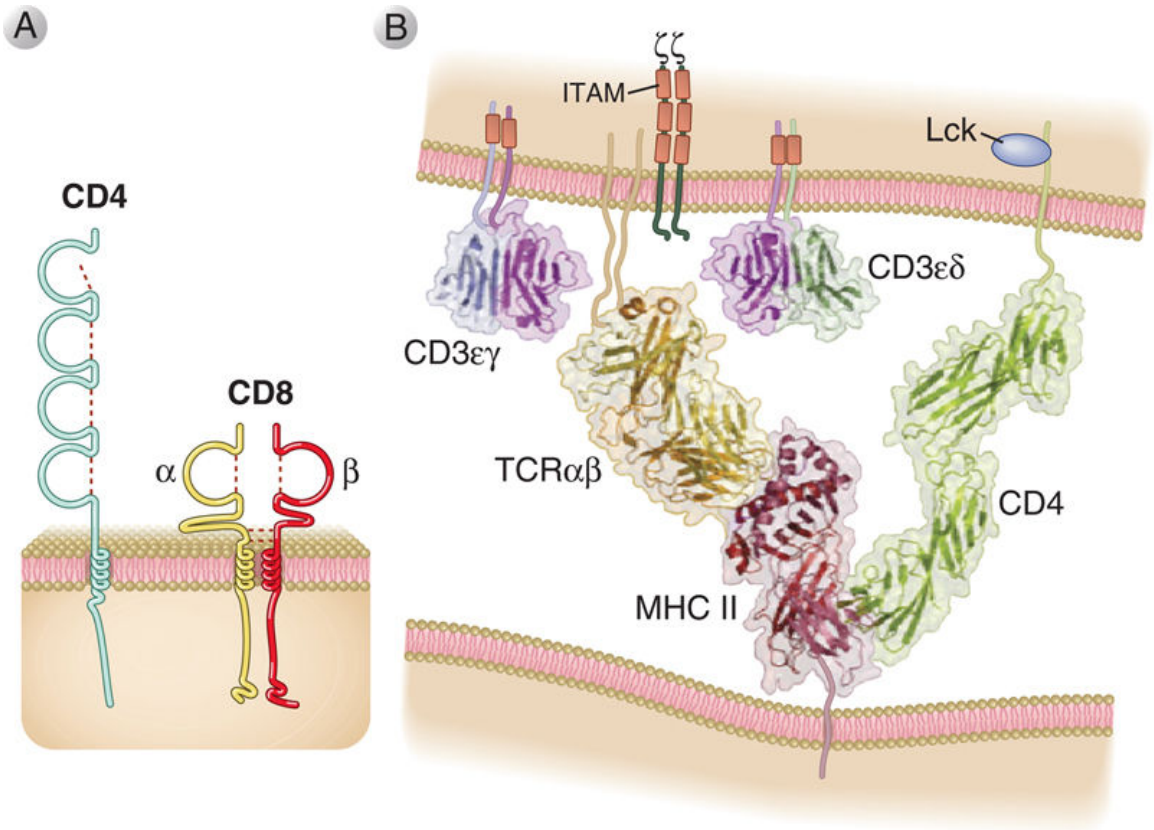


FIGURA 7.10 Visão esquemática da estrutura dos correceptores CD4 e CD8.
A, A proteína CD4 é um monômero integral da membrana que consiste em quatro domínios de Ig extracelulares, um domínio transmembrana e uma cauda citoplasmática. A proteína CD8 é um heterodímero αβ integral da membrana ligado por dissulfeto ou um homodímero αα ligado por dissulfeto (não mostrado). Cada cadeia tem um único domínio de Ig extracelular. **B,** O CD4 nas células T se associa a uma porção invariável do MHC de classe II em uma célula apresentadora de antígeno que está interagindo com o receptor da célula T na mesma célula T. Note que as porções citoplasmáticas tanto de CD4 quanto de CD8 podem se associar a Lck e que a cadeia zeta é apresentada esquematicamente. *ITAM,* motivo de ativação baseado na tirosina do imunorreceptor. (Adaptado de Garcia KC, Adams E: How the T cell receptor sees antigen-a structural view, Cell 122:333-336, 2005, com permissão.)

A maioria das moléculas de CD8 existe como heterodímeros dissulfeto-ligados compostos de duas cadeias relacionadas chamadas CD8α e CD8β (Fig. 7.10). Tanto a cadeia α quanto a cadeia β têm um único domínio extracelular Ig, uma região transmembrana hidrofóbica e uma cauda citoplasmática altamente básica de cerca de 25 aminoácidos de

comprimento. O domínio Ig de CD8 liga-se principalmente ao domínio $\alpha 3$ não polimórfico de moléculas do MHC de classe I e também interage com porções do domínio $\alpha 2$ e com a $\beta 2$ microglobulina. Esses homodímeros também estão presentes em uma subpopulação de células dendríticas murinas (Capítulo 6).

A quinase Lck da família Src se associa às caudas citoplasmáticas tanto de CD4 quanto de CD8. A capacidade dos domínios extracelulares desses correceptores de se ligarem às moléculas do MHC auxilia essas proteínas a se posicionarem adjacentes ao TCR que faz contato com o mesmo complexo MHC-peptídeo na APC. Como resultado, na face citosólica da membrana plasmática, a Lck é colocada em estreita proximidade aos ITAMs no CD3 e nas proteínas ζ. A Lck então fosforila os resíduos de tirosina nesses ITAMs, facilitando assim o subsequente recrutamento e ativação da tirosina quinase ZAP-70. Note que o correceptor CD4/CD8 tem uma quinase constitutivamente ligada; as outras proteínas no complexo TCR, CD3 e ζ, contêm ITAMs que precisam primeiro ser fosforiladas antes que possam recrutar uma quinase (Fig. 7.10B). Dessa forma, o correceptor fornece a atividade enzimática inicial para os sinais iniciadores após o reconhecimento de complexos peptídeo-MHC.

Ativação de Tirosina Quinases e de Quinases Lipídicas durante a Ativação das Células T

A fosforilação de proteínas e lipídeos tem um papel central na transdução de sinais do complexo TCR e correceptores. Mesmo antes da ativação do TCR há alguma fosforilação basal das tirosinas do ITAM e algum recrutamento de ZAP-70, como descrito adiante, para estes ITAMs fosforilados. Segundos após a ligação do TCR, a Lck fosforila os ITAMs do CD3 e das cadeias ζ (Fig. 7.11).

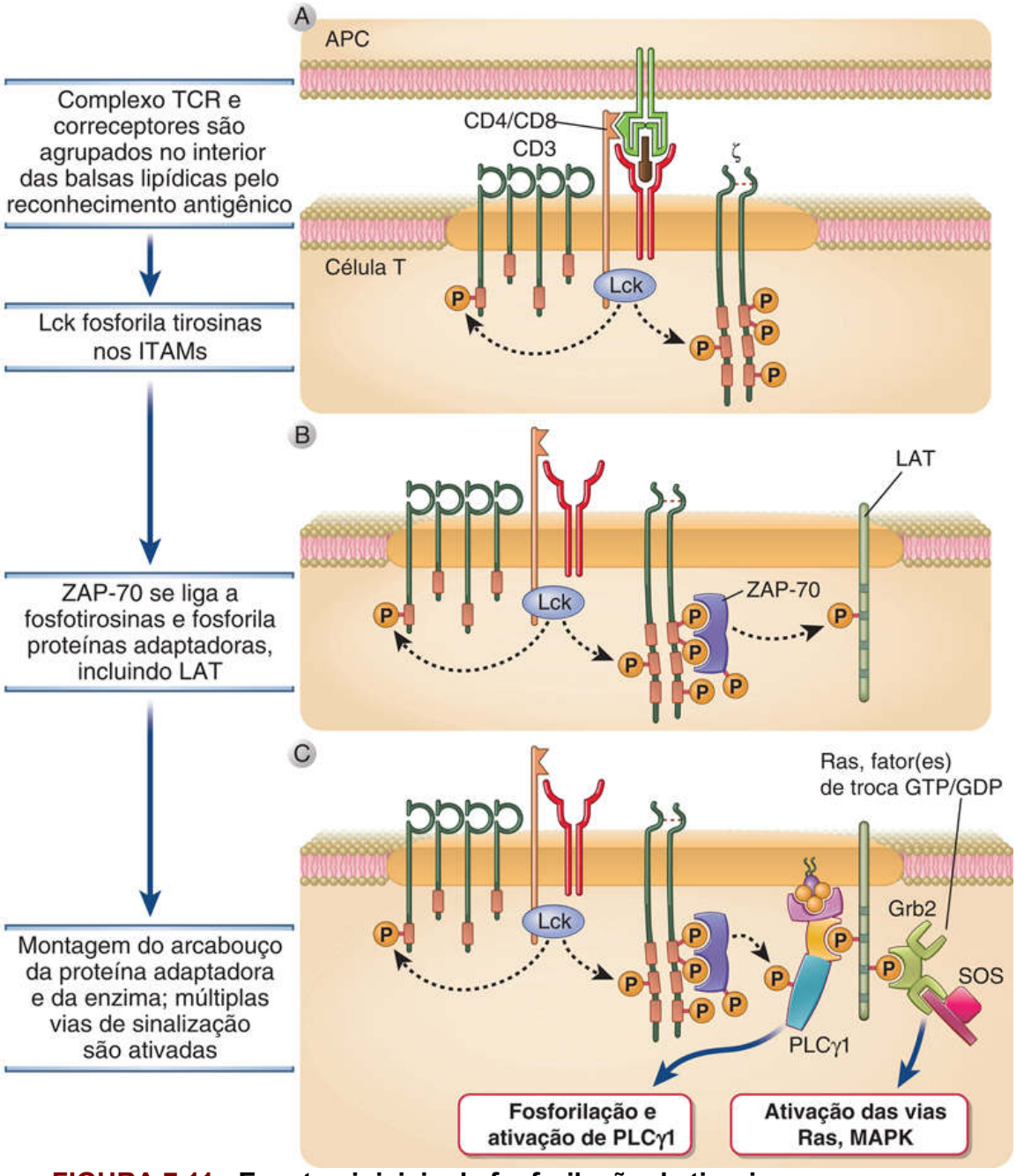


FIGURA 7.11 Eventos iniciais da fosforilação de tirosinas durante a ativação de células T.
No momento do reconhecimento do antígeno, ocorre o agrupamento de complexos TCR com os correceptores (CD4, neste caso). A Lck associada ao CD4 torna-se ativa e fosforila as tirosinas nos ITAMs de CD3 e cadeias ζ **(A)**. A ZAP-70 se liga às fosfotirosinas das cadeias ζ, e ela própria é fosforilada e ativada. (A ilustração mostra a ligação de uma molécula ZAP-70 a duas fosfotirosinas de um ITAM na cadeia ζ, mas é provável que a iniciação de uma resposta das células T necessite da montagem de

múltiplas moléculas ZAP-70 em cada cadeia ζ.) A ZAP-70 ativa então fosforila tirosinas em várias moléculas adaptadoras, tais como LAT **(B)**. Os adaptadores tornam-se sítios de ancoragem para enzimas celulares, tais como PLCγ1 e fatores de trocas GDP-GTP que ativam Ras e outras proteínas G pequenas *upstream* às MAP quinases **(C)**, e essas enzimas ativam várias respostas celulares. *PLCγ1,* fosfolipase C γ1; *MAPK,* proteína quinase ativada por mitógeno.

Os ITAMs com tirosinas fosforiladas na cadeia ζ são sítios de ancoragem para a tirosina quinase da família Syk chamada **ZAP-70** (proteína de 70 kDa associada a ζ). A ZAP-70 contém dois domínios SH2 que podem se ligar às fosfotirosinas dos ITAMs. Conforme discutido anteriormente, cada ITAM tem dois resíduos de tirosina e ambos devem ser fosforilados para fornecer um sítio de ancoragem para uma molécula de ZAP-70. A ZAP-70 ligada torna-se um substrato para a Lck adjacente após o reconhecimento do antígeno pelo TCR, e essa Lck fosforila resíduos específicos de tirosina da ZAP-70. Como resultado, a ZAP-70 adquire sua própria atividade de tirosina quinase, sendo então capaz de fosforilar um número de outras moléculas de sinalização citoplasmática. Um limiar crítico de atividade da ZAP-70 pode ser necessário antes que eventos de sinalização *downstream* ocorram, e esse limite é alcançado pelo recrutamento de múltiplas moléculas de ZAP-70 para os ITAMs fosforilados nas cadeias ζ e nas caudas de CD3.

Outra via de sinalização nas células T envolve a ativação da **PI3-quinase** (Fig. 7.12). Essa enzima é recrutada para o complexo TCR e proteínas adaptadoras associadas, e fosforila o fosfatidilinositol bifosfato (PIP2), localizado na camada interna da membrana plasmática, gerando PIP3. Certas proteínas sinalizadoras no citosol têm domínios PH especializados com afinidade para PIP3 e, como resultado, proteínas contendo o domínio PH podem se ligar no interior da membrana celular apenas quando PIP3 é gerado. Exemplos de proteínas contendo o domínio PH incluem tirosina quinases tais como a Itk em células T e a Btk em células B. Outra importante quinase dependente de PIP3 é a PDK1, necessária para a fosforilação e ativação de uma importante quinase *downstream* chamada Akt ou proteína quinase B (PKB). A Akt ativada fosforila alvos cruciais e contribui para a sobrevivência celular de diversas maneiras, incluindo pela inativação de proteínas pró-apoptóticas da família Bcl-2.

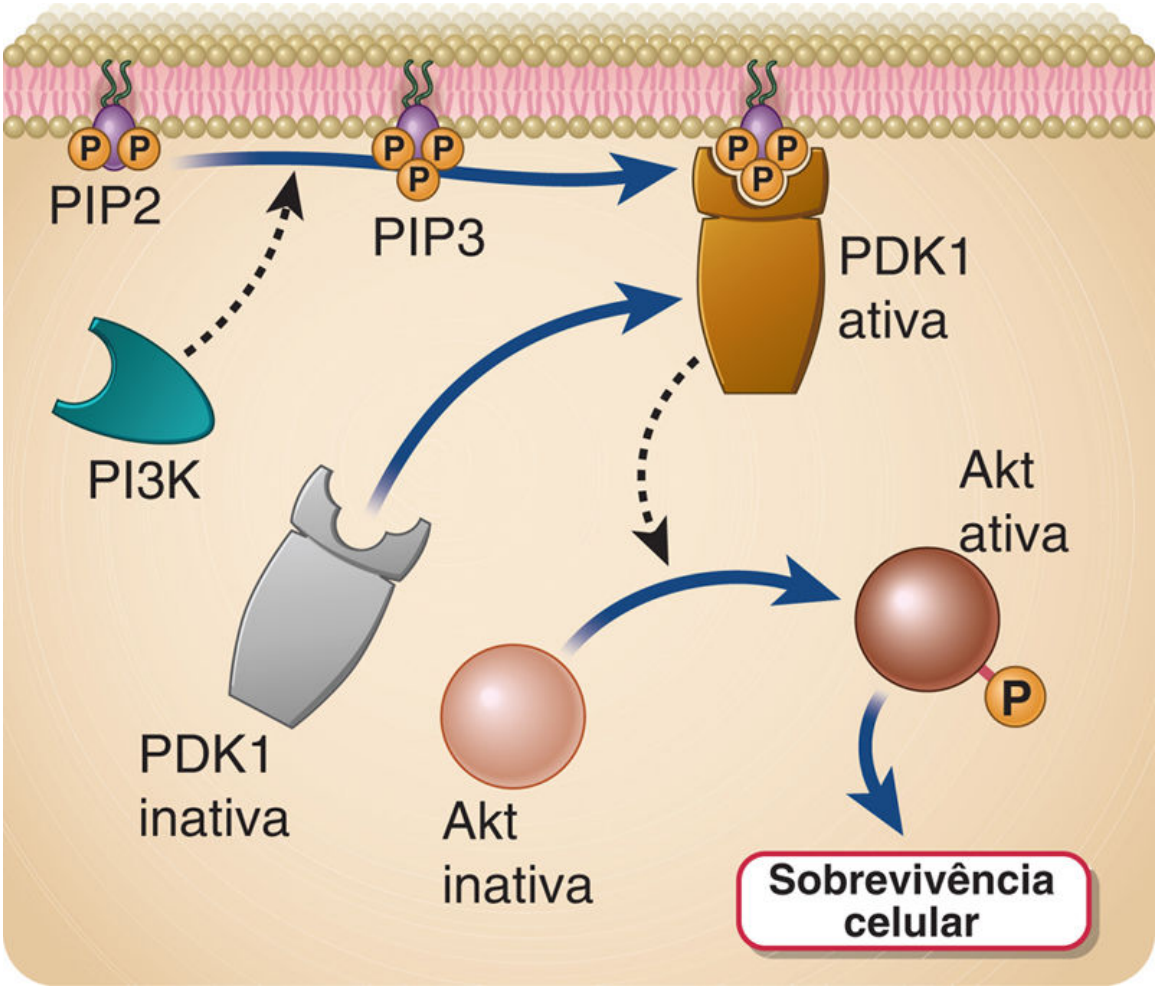


FIGURA 7.12 Papel da PI3-quinase nas respostas de células T. O PIP3 de membrana, gerado pela PI3K, ativa a PDK1, que fosforila e ativa a quinase Akt, que por sua vez fosforila alvos *downstream* que estão envolvidos na sobrevivência celular. *PDK1,* quinase 1 dependente de 3-fosfoinositídeo; *PI3K,* fosfatidilinositol-4,5-bifosfato 3 quinase; *PIP2,* fosfatidilinositol bifosfato; *PIP3,* fosfatidilinositol trifosfato.

Recrutamento e Modificação de Proteínas Adaptadoras

A ZAP-70 ativada fosforila diversas proteínas adaptadoras, as quais então se tornam capazes de se ligar a moléculas de sinalização (Fig. 7.11). Um evento inicial essencial na ativação da célula T é a fosforilação de tirosinas de proteínas adaptadoras mediada pela ZAP-70, tais como SLP-76 e LAT. A LAT fosforilada se liga diretamente à PLCγ1, uma enzima-chave na ativação da célula T (discutida mais adiante), e coordena o

recrutamento de diversas outras proteínas adaptadoras, incluindo SLP-76, GADS e Grb-2, para o aglomerado de TCR e proteínas associadas ao TCR, chamado algumas vezes de sinalossomo. Assim, a LAT serve para trazer uma variedade de componentes *downstream* às vias de sinalização do TCR para perto de seus ativadores *upstream*. Como a função de muitos desses adaptadores depende da fosforilação da sua tirosina pela ZAP-70 ativa, apenas o reconhecimento do antígeno (o estímulo fisiológico para ativação da ZAP-70) desencadeia as vias de transdução de sinal que levam às respostas funcionais de células T.

Formação da Sinapse Imunológica

Quando o complexo TCR reconhece peptídeos associados ao MHC em uma APC, diversas proteínas de superfície das células T e moléculas sinalizadoras intracelulares são rapidamente mobilizadas para o sítio de contato entre as células T e as APC (Fig. 7.13). Essa região de contato físico entre a célula T e a APC forma uma estrutura semelhante a um alvo, que é chamada de **sinapse imunológica** ou aglomerado de ativação supramolecular (SMAC, do inglês *supramolecular activation cluster*). As moléculas da célula T que são mobilizadas para o centro da sinapse incluem o complexo TCR (TCR, CD3 e cadeias ζ), os correceptores CD4 ou CD8, os receptores de coestimuladores (tal como CD28), enzimas tais como a PKC-θ e proteínas adaptadoras que se associam às caudas citoplasmáticas dos receptores transmembrana. Nessa região da sinapse, chamada de c-SMAC (para SMAC central), a distância entre a membrana plasmática da célula T e da APC é de cerca de 15 nm. As integrinas permanecem na periferia da sinapse, onde funcionarão para estabilizar a ligação da células T à APC, formando a porção periférica da SMAC chamada de p-SMAC. Nessa parte externa da sinapse, as duas membranas estão a cerca de 40 nm de distância. Muitas moléculas sinalizadoras encontradas nas sinapses estão inicialmente localizadas em regiões da membrana plasmática que têm um conteúdo de lipídeos diferente do restante da membrana celular e são chamadas de balsas lipídicas (*lipid rafts*) ou microdomínios ricos em glicolipídeos. A sinalização do TCR e do receptor coestimulador é iniciada nessas balsas (*rafts*), e a sinalização inicia rearranjos do citoesqueleto que permitem que as balsas se aglutinem e formem a sinapse imunológica.

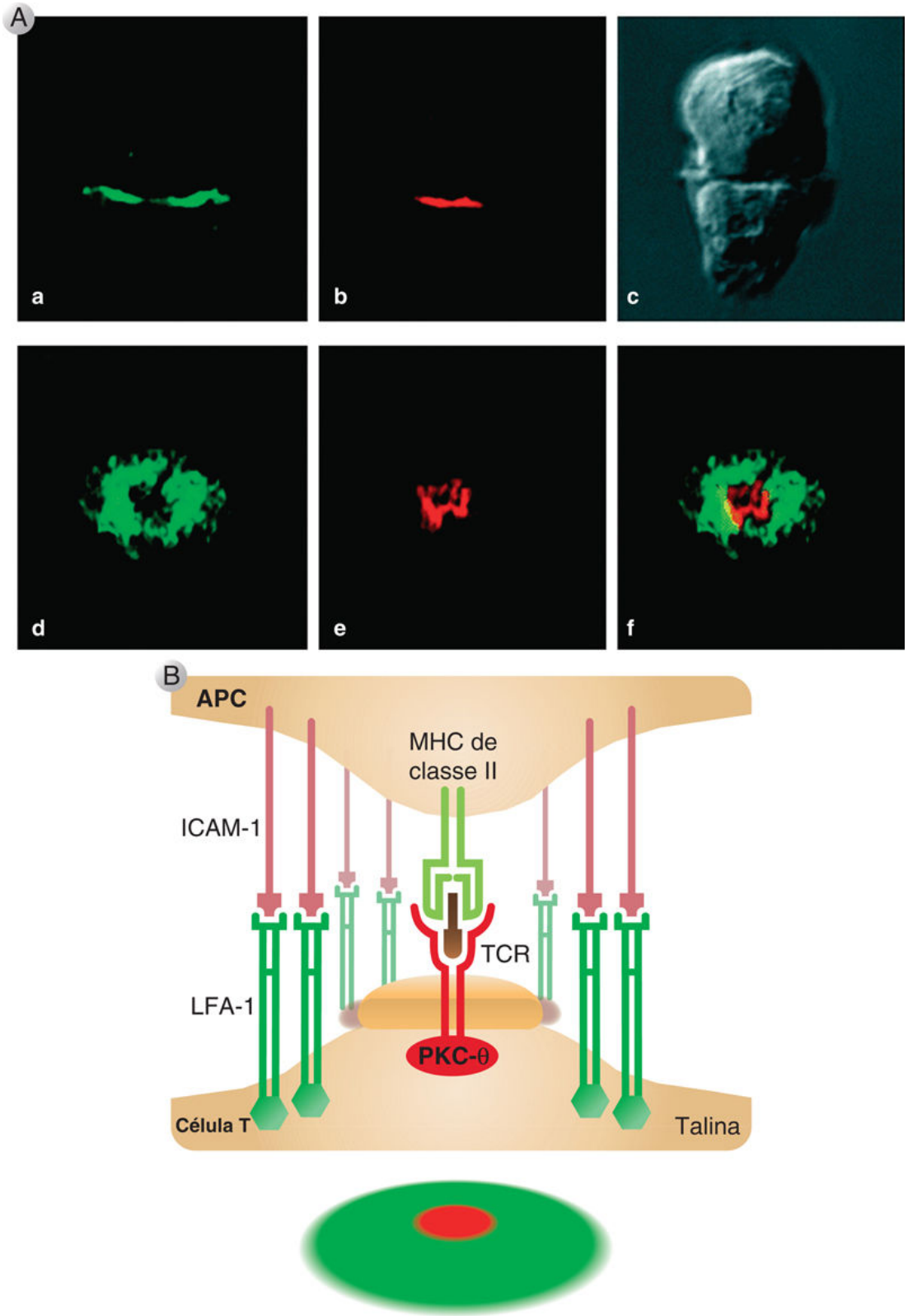


FIGURA 7.13 A sinapse imunológica.
A, Esta figura mostra duas visões da sinapse imunológica em um conjugado de célula T-APC (mostrado como uma imagem de

Nomarski no painel c). A talina, uma proteína que se associa à cauda citoplasmática da integrina LFA-1, foi revelada por um anticorpo marcado com um corante fluorescente verde, e a PKC-θ, que se associa ao complexo TCR, foi visualizada por anticorpos conjugados a um corante fluorescente vermelho. Nos painéis *a* e *b*, uma seção óptica bidimensional do local de contato das células ao longo do eixo *x-y* é mostrado, revelando a localização central da PKC-θ e a localização periférica da talina, ambas na célula T. Nos painéis d a f, uma visão tridimensional de toda a região de contato célula-célula ao longo do eixo *x-z* é apresentada. Note, novamente, a localização central da PKC-θ e o acúmulo periférico da talina. **B,** Uma visão esquemática da sinapse, mostrando a talina e a LFA-1 na p-SMAC (*verde*) e a PKC-θ e o TCR no c-SMAC (*vermelho*). (**A,** Reproduzido com permissão de Macmillan Publishers Ltda. de Monks CRF, Freiburg BA, Kupfer H, Sciaky N, Kupfer A: Three dimensional segregation of supramolecular activation clusters in T cells, Nature 395:82-86. Copyright 1998.)

As sinapses imunológicas desempenham várias funções durante e após a ativação das células T.

- A sinapse forma um contato estável entre uma célula T antígeno-específica e uma APC exibindo aquele antígeno, e se torna o sítio para a montagem da maquinaria de sinalização da célula T, incluindo o complexo TCR, correceptores, receptores coestimuladores e adaptadores. Embora alguma transdução de sinal pelo TCR seja iniciada antes da formação da sinapse e seja necessária à formação da mesma, a própria sinapse imunológica fornece uma interface única para a ativação do TCR. A ativação de células T precisa superar os problemas de uma afinidade geralmente baixa dos TCRs aos ligantes peptídeo-MHC e a presença de poucas moléculas do MHC exibindo qualquer peptídeo em uma APC. A sinapse representa um sítio no qual o acoplamento repetido dos TCRs pode ser sustentado por essa pequena quantidade de complexos peptídeo-MHC na APC, facilitando, assim, a sinalização prolongada e efetiva das células T.
- A sinapse garante a transferência específica do conteúdo de grânulos secretórios e citocinas de uma célula T para as APCs ou para alvos que estão em contato com a célula T. Foi demonstrado que, na sinapse, há transferência vetorial de grânulos secretórios contendo perforina e granzimas dos CTLs às células-alvo (Capítulo 11). Da mesma forma, as interações CD40L-CD40 são

facilitadas pelo acúmulo dessas moléculas nas interfaces da sinapse imunológica, entre a célula T e a APC. Algumas citocinas são também secretadas de maneira direcionada para a fenda sináptica, a partir de onde são preferencialmente transferidas à célula que está expondo o antígeno para o linfócito T.

- A sinapse, especialmente na região c-SMAC, pode ser também um importante sítio para o *turnover* das moléculas sinalizadoras, primariamente pela ubiquitinação e transferência para os endossomos tardios e lisossomos. Essa degradação de proteínas sinalizadoras contribui para o término da ativação de células T e é discutida mais adiante.

Vias de Sinalização da Proteína Quinase Ativada por Mitógeno em Linfócitos T

As pequenas proteínas ligantes de nucleotídeo guanina (proteínas G) ativadas pelo reconhecimento antigênico estimulam pelo menos três proteínas quinases ativadas por mitógeno (MAP, do inglês,* mitogen-activated protein*) diferentes que, por sua vez, ativam fatores de transcrição distintos. As proteínas G estão envolvidas em diversas respostas de ativação em diferentes tipos celulares. Dois importantes membros dessa família ativados *downstream* ao TCR são Ras e Rac. Cada um ativa um componente diferente ou um conjunto de fatores de transcrição e juntos medeiam muitas respostas celulares das células T.

- A via de **Ras** é acionada em células T após a ligação do TCR, levando à ativação da quinase ativada por receptor extracelular (ERK, do inglês *extracellular receptor-activated kinase*), um membro proeminente da família MAP quinase, e, eventualmente, à ativação de fatores de transcrição *downstream*. A Ras está fracamente ligada à membrana plasmática através de lipídeos acoplados covalentemente. Na sua forma inativa, o sítio de ligação ao nucleotídeo guanina de Ras é ocupado por difosfato de guanosina (GDP). Quando o GDP ligado é substituído pelo trifosfato de guanosina (GTP), Ras sofre uma alteração conformacional e pode então recrutar ou ativar várias enzimas celulares, das quais a mais importante é c-Raf. A ativação de Ras pela troca GDP/GTP é observada em resposta ao acoplamento de muitos tipos de receptores em várias populações celulares, incluindo o complexo TCR em células T. As proteínas Ras mutadas que são

constitutivamente ativas (i.e., assumem constantemente a conformação ligada a GTP) estão associadas à transformação neoplásica de muitos tipos celulares. As proteínas Ras não mutadas são GTPases ativas que convertem o GTP ligado a Ras em GDP, retornando assim Ras ao seu estado normal inativo.

O mecanismo de ativação de Ras nas células T envolve as proteínas adaptadoras LAT e Grb-2 (Fig. 7.14). Quando LAT é fosforilada por ZAP-70 no local de agrupamento dos TCRs, ela serve como sítio de acoplamento para o domínio SH2 de Grb-2. Uma vez ligado ao LAT, Grb-2 recruta o fator de troca GDP/GTP na Ras, conhecido como SOS, para a membrana plasmática. O SOS catalisa a troca de GTP para GDP em Ras. Isso gera a forma ligada a GTP de Ras (escrito como Ras·GTP), a qual então ativa uma cascata de três quinases MAP. A Ras·GTP ativa diretamente uma quinase chamada Raf, a primeira quinase nessa cascata. Raf então fosforila e depois ativa uma quinase de dupla especificidade chamada de MEK-1 que, por sua vez, fosforila a terceira quinase na cascata, chamada ERK, em resíduos treonina e tirosina espaçados de maneira próxima um do outro. A ERK é uma MAP quinase e a MEK-1 é chamada quinase da MAP quinase (uma quinase que ativa uma MAP quinase). A ERK ativada transloca-se para o núcleo e fosforila uma proteína chamada Elk, e a Elk fosforilada estimula a transcrição de c-Fos, um componente do fator de transcrição da proteína de ativação 1 (AP-1, do inglês *activation protein 1*).

- Em paralelo à ativação de Ras através de recrutamento de Grb-2 e SOS, os adaptadores fosforilados pelas quinases associadas ao TCR também recrutam e ativam uma proteína de troca GTP/GDP chamada de **Vav** que atua em **Rac**, outra pequena proteína de ligação ao nucleotídeo guanina. A Ras·GTP gerada inicia uma cascata de MAP quinase paralela, resultando na ativação de uma MAP quinase distinta, a quinase N-terminal c-Jun (JNK, do inglês *c-Jun N-terminal kinase*). Às vezes, a JNK é chamada proteína quinase ativada por estresse (SAP, do inglês, *stress-activated protein*) porque em muitas células ela é ativada por diversos estímulos nocivos. A JNK ativada então fosforila c-Jun, o segundo componente do fator de transcrição AP-1. Um terceiro membro da família MAP quinase, além de ERK e JNK, é a p38, que também é ativada por Ras·GTP e, por sua vez, ativa vários fatores de transcrição. A Ras·GTP também induz a reorganização do

citoesqueleto e pode desempenhar um papel no agrupamento dos complexos TCR, dos correceptores e de outras moléculas de sinalização na sinapse.

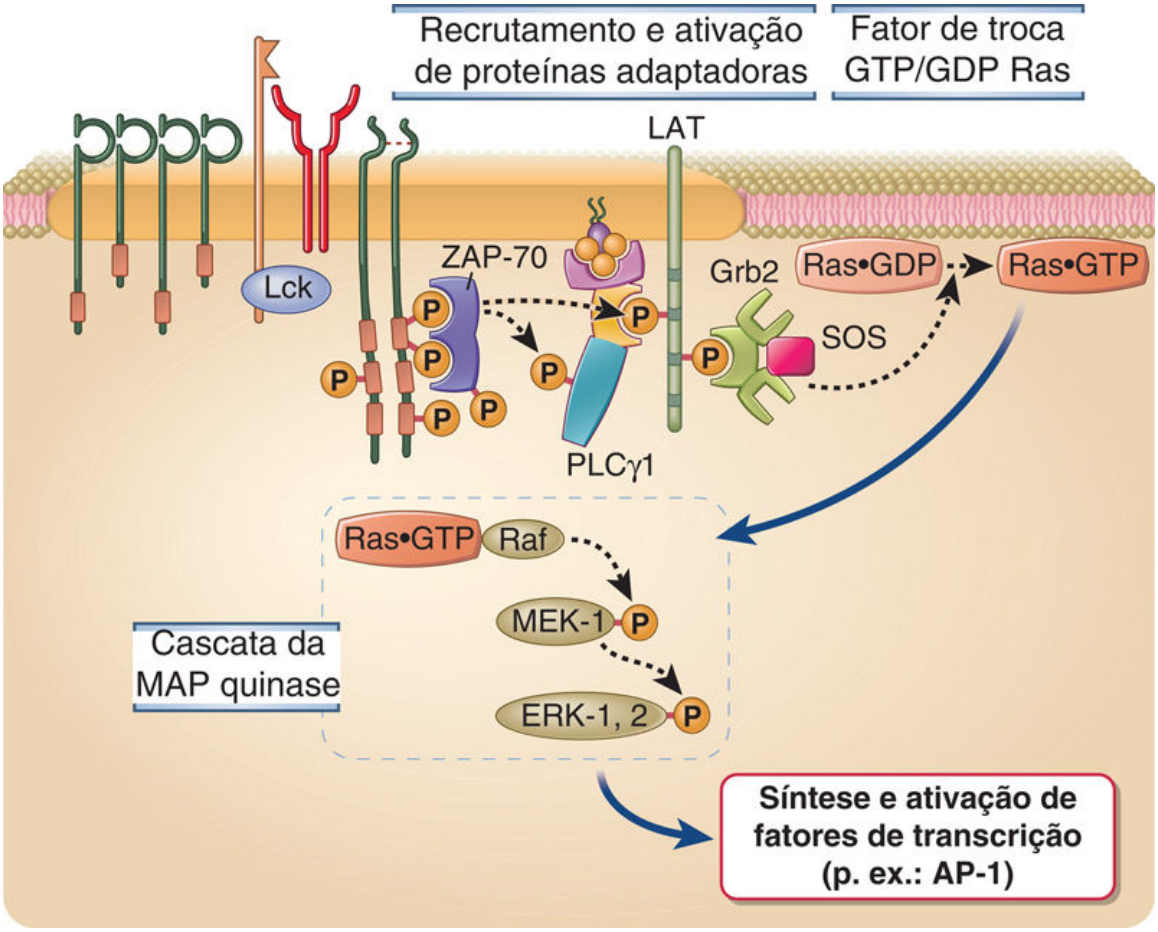


FIGURA 7.14 Via Ras-MAP quinase na ativação de células T. A ZAP-70, ativada pelo reconhecimento do antígeno, fosforila proteínas adaptadoras associadas à membrana (tais como LAT) que então se ligam a outro adaptador, Grb-2, o qual proporciona um sítio de ancoragem para o fator de troca GTP/GDP chamado SOS. O SOS converte a Ras·GDP para Ras·GTP. O Ras·GTP ativa uma cascata de enzimas, que culmina na ativação da MAP quinase ERK. Uma via paralela dependente de Rac gera outra MAP quinase ativa, a JNK (não mostrada).

As atividades de ERK e JNK são eventualmente desligadas pela ação de proteínas tirosina/treonina fosfatases de dupla especificidade. Essas fosfatases são induzidas ou ativadas pelas próprias ERK e JNK,

proporcionando um mecanismo de *feedback* negativo para finalizar a ativação das células T.

Vias de Sinalização Mediadas por Cálcio e Proteína Quinase C em Linfócitos T

A sinalização do TCR leva à ativação da isoforma γ1 da enzima fosfolipase C (PLCγ1), e os produtos da hidrólise dos lipídeos de membrana mediada por PLCγ1 ativam eventos de sinalização adicionais que induzem fatores de transcrição específicos em células T (Fig. 7.15). A PLCγ1 é uma enzima citosólica recrutada para a membrana plasmática por tirosinas fosforiladas da LAT dentro de poucos minutos após a ligação do ligante ao TCR. Nesse local, a enzima é fosforilada por ZAP-70 e por outras quinases, tais como a quinase da família Tec chamada Itk. A PLCγ1 fosforilada catalisa a hidrólise do fosfolipídeo da membrana plasmática fosfatidilinositol 4,5-bifosfato (PIP2), gerando dois produtos de degradação: o açúcar solúvel inositol 1,4,5-trifosfato (IP3) e o diacilglicerol (DAG) ligado à membrana. O IP3 e o DAG então ativam duas vias de sinalização *downstream* distintas em células T.

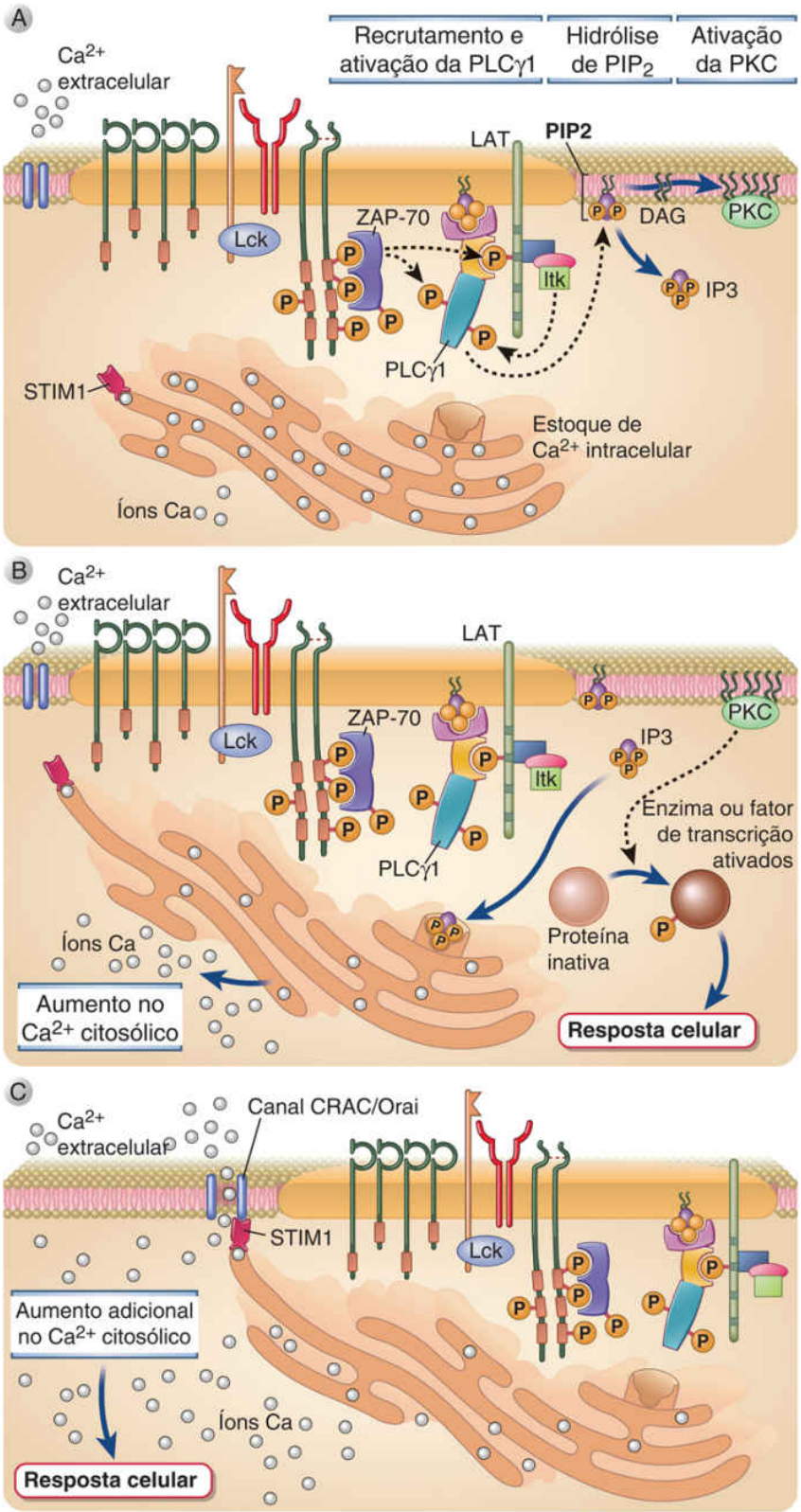


FIGURA 7.15 Sinalização de células T *downstream* a PLCγ1. **A,** A proteína adaptadora LAT, que é fosforilada na ativação da célula T, se liga à enzima PLCγ1 citosólica, que é fosforilada e

ativada pela ZAP-70 e outras quinases, tais como a Itk. A PLCγ1 ativa hidrolisa o PIP2 de membrana para gerar IP3, que estimula um aumento do cálcio citosólico, e DAG, que ativa a enzima PKC. **B,** IP3 causa depleção de cálcio do retículo endoplasmático, que é detectado por STIM1. A PKC induz numerosas respostas celulares. **C,** STIM1 induz a abertura do canal CRAC que facilita a entrada de cálcio extracelular para o citosol. Orai é um componente do canal CRAC. O aumento do cálcio citosólico em conjunto com a PKC ativa diversos fatores de transcrição, levando a respostas celulares. *DAG,* diacilglicerol; *IP3,* inositol 1,4,5-trifosfato; *PIP2,* fosfatidilinositol bifosfato; *PKC,* proteína quinase C.

O IP3 produz um rápido aumento de cálcio citosólico livre após a ativação das células T. O IP3 se difunde através do citosol para o retículo endoplasmático, onde se liga ao seu receptor, um canal de cálcio regulado por ligante, e estimula a liberação das reservas de cálcio sequestrado pela membrana. Como resultado, dentro de minutos, a concentração do íon cálcio citosólico livre aumenta a partir de um nível de repouso de cerca de 100 nM a um pico de 600 a 1.000 nM. A depleção de cálcio do retículo endoplasmático é detectada pela STIM1, uma proteína de membrana do retículo endoplasmático, que então ativa um canal iônico da membrana plasmática chamado canal de cálcio ativado pela liberação de cálcio (CRAC, do inglês *calcium release-activated calcium channel*). O resultado é um influxo de cálcio extracelular, que mantém os níveis citosólicos em cerca de 300 a 400 nM por mais de 1 hora. Um componente-chave do canal CRAC é a proteína Orai; mutações no gene que codifica essa proteína são a causa de uma rara doença de imunodeficiência humana. O cálcio citosólico livre atua como uma molécula sinalizadora pela ligação à calmodulina, uma proteína reguladora ubíqua dependente de cálcio. Os complexos cálcio-calmodulina ativam várias enzimas, incluindo a calcineurina, uma serina/treonina fosfatase proteica que é importante para a ativação de fatores de transcrição, como discutido adiante.

DAG, o segundo produto de degradação de PIP2, é um lipídeo ligado à membrana que ativa a enzima proteína quinase C (PKC). Existem várias isoformas de PKC que participam da geração de fatores de transcrição ativos, discutidos adiante. A combinação de níveis elevados de cálcio citosólico livre e de DAG ativa certas isoformas de PKC associadas à membrana, por meio da indução de uma mudança conformacional que torna o sítio catalítico da quinase acessível aos seus substratos. Numerosas proteínas *downstream* são fosforiladas pela PKC. A isoforma PKC-θ se localiza na sinapse imunológica e está envolvida na ativação e translocação

para o núcleo do fator de transcrição nuclear κB (NF-κB). As vias de ativação do NF-κB são discutidas adiante neste capítulo.

Até agora, descrevemos várias vias de transdução de sinal iniciadas pela ligação do ligante ao TCR que resulta na ativação de tipos diferentes de enzimas: as vias das pequenas proteínas G-MAP quinase levam à ativação de quinases tais como ERK e JNK; uma via de PLCγ1 dependente de cálcio levando à ativação da fosfatase calcineurina; e uma via dependente de DAG levando à ativação da PKC. Cada uma dessas vias contribui para a expressão de genes que codificam as proteínas necessárias para a expansão clonal, diferenciação e funções efetoras das células T. Na próxima seção, descreveremos os mecanismos pelos quais estas diferentes vias de sinalização estimulam a transcrição de vários genes em células T.

Ativação de Fatores de Transcrição que Regulam a Expressão Gênica das Células T

As enzimas geradas pela sinalização do TCR ativam fatores de transcrição que se ligam às regiões reguladoras de numerosos genes em células T e, desse modo, aumentam a transcrição desses genes (Fig. 7.16). Muito do nosso entendimento sobre a regulação transcricional de genes em células T se baseia nas análises de expressão de genes de citocinas. A regulação transcricional da maioria dos genes de citocinas em células T é controlada pela ligação de fatores de transcrição a sequências nucleotídicas nas regiões promotoras e amplificadoras desses genes. Por exemplo, o promotor localizado a 5′ dos éxons codificadores do gene *IL2* contém um segmento de aproximadamente 300 pares de bases, o qual possui sítios de ligação para vários fatores de transcrição diferentes. Todos esses sítios devem ser ocupados pelos fatores de transcrição para a máxima expressão do gene *IL2*. Diferentes fatores de transcrição são ativados por vias de transdução de sinal citoplasmáticas distintas e o requerimento de múltiplos fatores de transcrição explica a necessidade de ativar muitas vias de sinalização após o reconhecimento antigênico. Os mesmos princípios são verdadeiros para a expressão induzida de muitos genes em células T, incluindo os que codificam receptores de citocinas e moléculas efetoras, embora diferentes genes possam ser responsivos a diferentes combinações de fatores de transcrição.

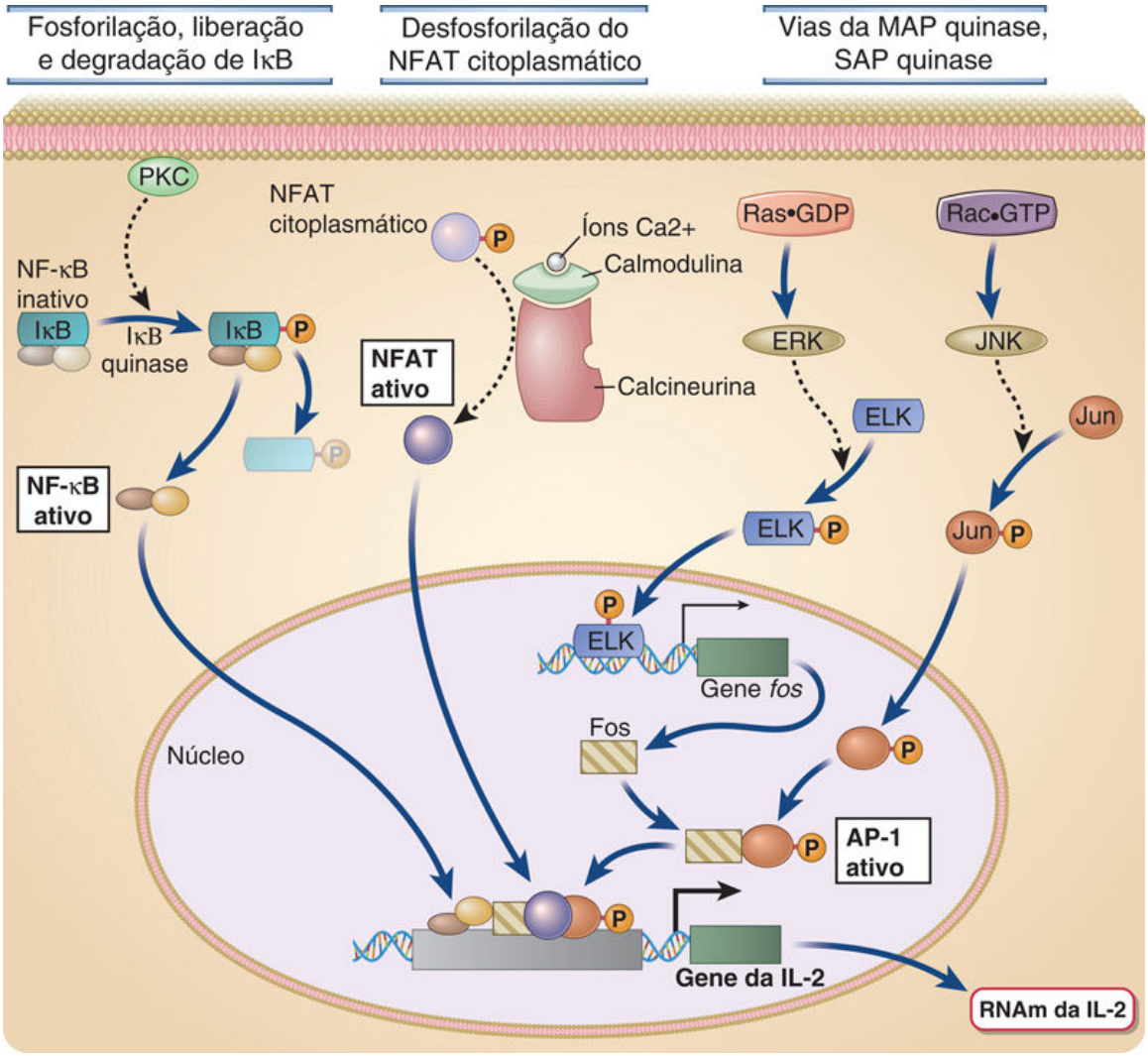


FIGURA 7.16 Ativação de fatores de transcrição nas células T. Múltiplas vias de sinalização convergem nas células T antígeno-estimuladas para gerar fatores de transcrição que estimulam a expressão de vários genes (neste caso, o gene *IL-2*). A via de cálcio-calmodulina ativa o NFAT e as vias Ras e Rac geram os dois componentes de AP-1. Pouco é conhecido sobre a relação entre os sinais do TCR e a ativação de NF-κB. (O NF-κB é mostrado como um complexo de duas subunidades, que nas células T são tipicamente as proteínas p50 e p65, nomeadas pelos seus tamanhos moleculares em quilodáltons.) A PKC é importante na ativação de células T e a isoforma PKC-θ é particularmente importante na ativação do NF-κB. Esses fatores de transcrição atuam coordenadamente para regular a expressão gênica. Note também que as várias vias de sinalização são mostradas como ativadoras de fatores de transcrição únicos, mas pode haver uma sobreposição considerável e cada via pode desempenhar um papel na ativação de múltiplos fatores de transcrição.

Três fatores de transcrição ativados em células T pelo reconhecimento antigênico e que parecem ser cruciais para a maioria das respostas de células T são o fator nuclear das células T ativadas (NFAT, do inglês, *nuclear factor of activated T cells*), o AP-1 e o NF-κB.

- O **NFAT** é um fator de transcrição necessário para a expressão dos genes que codificam IL-2, IL-4, TNF e outras citocinas. O NFAT está presente em uma forma inativa, serina-fosforilada, no citoplasma de linfócitos T em repouso. Ele é ativado pela fosfatase cálcio-calmodulina-dependente, **calcineurina**. A calcineurina desfosforila o NFAT citoplasmático, revelando desse modo um sinal de localização nuclear que permite a translocação do NFAT para o núcleo. Uma vez no núcleo, o NFAT se liga às regiões reguladoras do gene de *IL2* e de outros genes, geralmente em associação a outros fatores de transcrição, tais como AP-1. O mecanismo de ativação do NFAT foi descoberto indiretamente por meio de estudos do mecanismo de ação do fármaco imunossupressor ciclosporina (Capítulo 17). Esse fármaco e o composto funcionalmente similar tacrolimo (FK506) são produtos naturais de fungos e agentes terapêuticos amplamente utilizados para o tratamento de rejeição ao transplante. Eles funcionam principalmente através do bloqueio da transcrição de genes de citocinas nas células T. A ciclosporina se liga a uma proteína citosólica chamada ciclofilina e o tacrolimo se liga a uma proteína chamada proteína de ligação a FK506 (FKBP, do inglês *FK-506-binding protein*). Os complexos ciclosporina-ciclofilina e FK506-FKBP se ligam e inibem a calcineurina e desse modo bloqueiam a translocação de NFAT para o núcleo.
- O **AP-1** é um fator de transcrição encontrado em muitos tipos celulares; é especificamente ativado em linfócitos T por sinais mediados pelo TCR. AP-1 é na verdade o nome para uma família de fatores de ligação ao DNA composta por dímeros de duas proteínas que se ligam uns aos outros por meio de um motivo estrutural compartilhado chamado de "zíper" de leucina. O fator AP-1 mais bem caracterizado é composto pelas proteínas Fos e Jun. Sinais induzidos pelo TCR levam ao aparecimento de AP-1 ativo no núcleo das células T. Como discutido anteriormente, a formação de AP-1 ativo tipicamente envolve a síntese da proteína Fos e a fosforilação da proteína Jun preexistente, ambas estimuladas por MAP quinases. O AP-1 se associa fisicamente a

outros fatores de transcrição no núcleo e funciona melhor em combinação com o NFAT. Assim, a ativação de AP-1 representa um ponto de convergência de várias vias de sinalização iniciadas pelo TCR.

- O termo **NF-κB** refere-se a um grupo de fatores de transcrição proximamente relacionados que são ativados em resposta aos sinais do TCR e são essenciais para a síntese de citocinas. As proteínas NF-κB são homodímeros ou heterodímeros de proteínas homólogas ao produto de um proto-oncogene celular chamado *c-rel* e são importantes na transcrição de muitos genes em diversos tipos celulares, particularmente em células da imunidade inata (Capítulo 4). A via do NF-κB é também importante para as respostas do receptor do tipo *Toll* e para a sinalização de citocinas, discutida em detalhes ao final deste capítulo.

As conexões entre diferentes proteínas de sinalização, ativação de fatores de transcrição e as respostas funcionais de células T são muitas vezes difíceis de estabelecer, porque existem interações complexas e não totalmente compreendidas entre as vias de sinalização. Além disso, por questão de simplificação, frequentemente discutimos a sinalização como um conjunto de vias lineares, mas sabemos que isso não reflete a realidade mais complexa e interconectada. Finalmente, temos nos concentrado em vias selecionadas para ilustrar como o reconhecimento antigênico pode levar à alterações bioquímicas, mas é evidente que muitas outras moléculas de sinalização também estão envolvidas na ativação de linfócitos induzida pelos antígenos.

Um mecanismo adicional pelo qual a ativação da célula T é regulada envolve os **microRNAs (miRNAs)**. Os miRNAs são pequenos RNAs não codificantes transcritos a partir do DNA, mas não traduzidos em proteínas. A função dos miRNAs é inibir a expressão de genes específicos. Os miRNAs são inicialmente gerados no núcleo como transcritos primários mais longos que são processados por uma endorribonuclease chamada *Drosha* em pré-miRNAs mais curtos, cuja estrutura é em forma de haste e alça (*stem loop*), e que podem ser exportados para o citosol. No citosol, os pré-miRNAs são processados por outra endorribonuclease chamada *Dicer* em miRNAs curtos de dupla-fita, com 21 a 22 pares de bases de comprimento. Uma cadeia dessa dupla-fita pode parear com uma sequência complementar de uma série de RNAs mensageiros celulares (mRNAs). Esses mRNAs se associam aos miRNAs e às proteínas Argonauta para formar complexos conhecidos como RISC (complexo de

silenciamento induzido por RNA, do inglês *RNA-induced silencing complexes*). Se a sequência original de 6-8 pares de bases do miRNA não for perfeitamente complementar ao mRNA, este é impedido de ser traduzido de forma eficiente. Os mRNAs podem ser direcionados para degradação quando a complementariedade é perfeita. Em ambos os casos, o resultado é uma redução na abundância de proteínas codificadas pelos genes-alvo dos miRNAs. Em células T ativadas, a expressão da maioria dos miRNAs está globalmente reduzida. Além disso, a proteína Argonauta é ubiquitinada e degradada, comprometendo ainda mais a função do miRNA e aumentando a expressão de um grande número de proteínas necessárias para a progressão do ciclo celular *downstream* à ativação das células T.

Modulação da Sinalização da Célula T por Tirosina Fosfatases Proteicas

As tirosina fosfatases removem porções de fosfato de resíduos de tirosina em proteínas e geralmente inibem a sinalização do TCR. Duas tirosina fosfatases com papel inibidor importante nos linfócitos e outras células hematopoiéticas são as chamadas SHP-1 e SHP-2 (para fosfatases 1 e 2 contendo domínios SH2). As fosfatases inibidoras são tipicamente recrutadas para os ITIMs nas caudas citoplasmáticas de receptores inibidores que são fosforilados pelas tirosina quinases induzidas durante a ativação dos linfócitos. Essas fosfatases inibem a transdução de sinal por meio da remoção das porções fosfato nos resíduos de tirosina em moléculas-chave da sinalização e assim antagonizam funcionalmente as tirosina quinases. Outra fosfatase inibidora chamada SHIP (inositol fosfatase contendo domínio SH2) não age em fosfoproteínas, mas é específica para um fosfolipídeo inositol. Assim como SHP-1 e SHP-2, SHIP se liga a sequências ITIM fosforiladas em receptores inibidores específicos. A SHIP remove um grupo fosfato do fosfatidilinositol (3,4,5)-trifosfato (PIP3), um fosfolipídeo da camada interna da membrana plasmática, antagonizando assim a sinalização de PI3-quinase.

Embora a maioria das fosfatases atenue a sinalização de linfócitos, uma tirosina fosfatase, CD45, facilita a ativação dessas células. A proteína CD45 é uma tirosina fosfatase receptora expressa em todas as células hematopoéticas. É uma proteína integral de membrana cuja cauda citoplasmática contém domínios da tirosina fosfatase proteica em tandem. A CD45 desfosforila resíduos inibidores de tirosina em quinases da família

Src em geral (incluindo Lck e Fyn nas células T) e, assim, contribui para a geração de quinases ativas.

Sinalização de Receptores Coestimuladores nas Células T

Os sinais coestimuladores são gerados por receptores que reconhecem ligantes nas APCs e cooperam com sinais do TCR para promover a ativação das células T. A hipótese de dois sinais para a ativação das células T foi introduzida nos Capítulos 1 e 4. No jargão imunológico, a resposta pelo TCR ao MHC e peptídeo numa APC é referida como sinal 1. As células T são completamente ativadas somente quando um peptídeo estranho ligado a uma molécula do MHC é reconhecido no contexto da ativação do sistema imune inato por um patógeno ou alguma outra causa de inflamação. Os ligantes coestimuladores representam os sinais de perigo (ou sinal 2) induzidos nas APCs pelos microrganismos. Assim, o reconhecimento de antígenos estranhos deve estar combinado com a percepção de perigo para que ocorra a ativação ótima das células T.

A Família CD28 de Receptores Coestimuladores

Os coestimuladores mais bem definidos para os linfócitos T são um par de proteínas relacionadas, chamadas B7-1 (CD80) e B7-2 (CD86), expressas em células dendríticas ativadas e outras APCs, as quais se ligam ao receptor CD28 nas células T. A molécula **CD28** é o principal receptor coestimulador para liberação de segundos sinais ativadores de células T. Os papéis biológicos das proteínas das famílias B7 e CD28 são discutidos no Capítulo 9. Outro receptor de ativação da família de CD28 é uma molécula chamada coestimulador induzível (ICOS, do inglês, *inducible costimulator*), o qual desempenha um importante papel no desenvolvimento de células T auxiliares foliculares, discutido nos Capítulos 9 e 12.

A Família de Receptores Coestimuladores CD2/Molécula de Ativação da Sinalização Linfocítica

Outras proteínas não membros da família CD28 também contribuem para a ativação e diferenciação de células T. Uma família de proteínas que desempenha um papel na ativação de células T e células NK está estruturalmente relacionada a um receptor chamado CD2. Em células T

humanas, o CD2 atua tanto como molécula de adesão intercelular quanto como transdutor de sinal.

Um subgrupo distinto de proteínas da família de CD2 é conhecido como família **SLAM** (do inglês, *signaling lymphocytic activation molecule*). A SLAM, como todos os membros da família CD2, é uma proteína integral de membrana que contém dois domínios Ig extracelulares e uma cauda citoplasmática longa. A cauda citoplasmática de SLAM, mas não a de CD2, contém um motivo específico com base em tirosina, TxYxxV/I (onde T é um resíduo de treonina, Y é um resíduo de tirosina, V é uma valina, I é uma isoleucina, e x é qualquer aminoácido), conhecido como motivo de troca com base na tirosina do imunorreceptor (ITSM, do inglês, *immunoreceptor tyrosine-based switch motif*), que é distinto dos motivos ITAM e ITIM encontrados em outros receptores ativadores e inibidores. O ITSM é denominado motivo de troca porque, em alguns receptores, pode orquestrar uma troca da ligação de uma tirosina fosfatase SHP-2 pela ligação de uma tirosina quinase (p. ex.: Fyn), dependendo da ausência ou da presença, respectivamente, de um adaptador chamado SAP (do inglês *SLAM-associated protein*). Assim, o ITSM pode mediar a alteração de uma função de inibição para uma função de ativação.

Os domínios extracelulares Ig de SLAM estão envolvidos em interações homofílicas. A SLAM em uma célula T pode interagir com a SLAM em células dendríticas e, como resultado, a cauda citoplasmática da SLAM pode liberar sinais dirigidos às células T. O motivo ITSM se liga a SAP, e esta forma uma ponte entre SLAM e Fyn (uma quinase da família Src que também está fisicamente ligada às proteínas CD3 em células T). A SLAM e outros membros da família SLAM atuam como receptores de coestimulação das células T, células NK e algumas células B. Como discutiremos no Capítulo 21, mutações no gene *SH2D1A* que codifica a SAP são a causa de uma doença chamada síndrome linfoproliferativa ligada ao X (XLP, do inglês *X-linked lymphoproliferative syndrome*).

Um importante membro da família SLAM em células NK, células T $CD8^+$ e células T γδ é chamado **2B4**. Assim como na SLAM, a cauda citoplasmática de 2B4 contém motivos ITSM, liga-se à proteína adaptadora SAP e sinaliza recrutando Fyn. Uma sinalização defeituosa de 2B4 contribui para o deficit imunológico em pacientes com a síndrome linfoproliferativa ligada ao X.

Alterações Metabólicas durante a Ativação das Células T

Quando são ativados, os linfócitos precisam amplificar sua atividade metabólica para lidar com as demandas aumentadas da resposta celular. No sistema imune, esse fenômeno tem sido mais bem estudado em células T. Após a ativação por antígenos e coestimuladores, as células T aumentam o transporte de glicose e transferem sua produção de energia da fosforilação oxidativa mitocondrial para a glicólise, mesmo na presença abundante de oxigênio, em um fenômeno conhecido como glicólise aeróbica ou efeito de Warburg (Fig. 7.17). Isso foi descrito pela primeira vez em células tumorais, mas é agora reconhecido como um importante mecanismo utilizado por muitas células em proliferação. Embora a glicólise produza menos ATP (a molécula que as células usam para armazenar e gerar energia) do que produz a fosforilação oxidativa, a glicólise não usa outros substratos além da glicose, tais como aminoácidos e lipídeos, e proporciona os blocos de construção essenciais necessários para a síntese de novas macromoléculas e para a divisão celular. A glicólise aeróbica em linfócitos pode ser importante não somente para a proliferação celular, mas também para a diferenciação de células T em células efetoras e para a produção de citocinas efetoras.

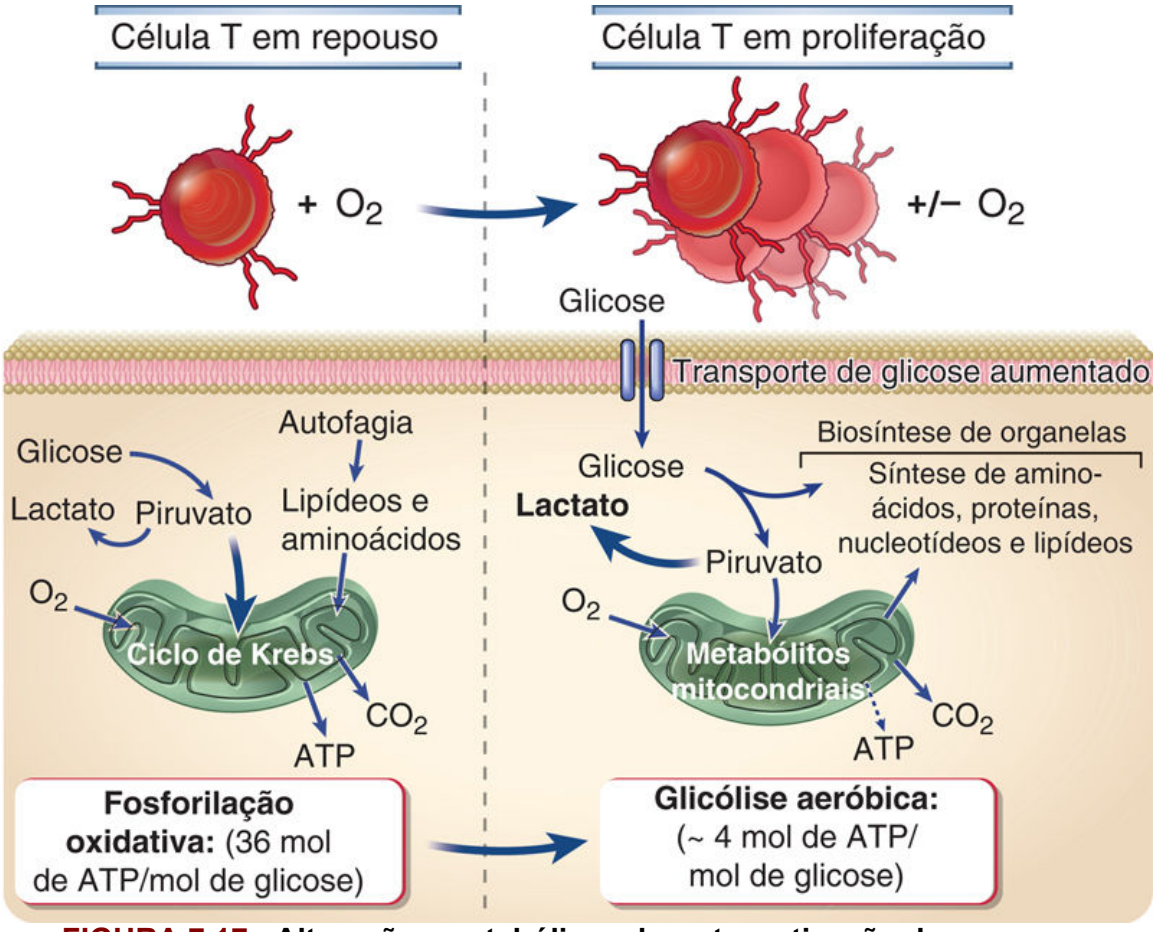


FIGURA 7.17 Alterações metabólicas durante a ativação das células T.
Nas células T em repouso, a principal via de geração de energia é a fosforilação oxidativa mitocondrial. Após a ativação, há uma mudança para a glicólise aeróbica, a qual gera menos energia, mas preserva e produz os blocos de construção para a biossíntese das organelas celulares, necessárias para a proliferação celular e respostas funcionais.

O Complexo Receptor Antigênico do Linfócito B

O receptor antigênico do linfócito B é uma forma transmembrana de uma molécula de anticorpo associada a duas cadeias de sinalização. Descrevemos a estrutura dos anticorpos em detalhes no Capítulo 5. Aqui vamos nos concentrar em algumas características proeminentes das formas de membrana de Ig e suas proteínas associadas, e discutir como elas emitem sinais para as células B. Uma vez que as vias de sinalização são muito parecidas com aquelas mostradas para as células T, serão resumidas sem grande detalhamento. Como observado anteriormente, existem tanto semelhanças quanto diferenças significativas entre os receptores antigênicos das células B e T (Tabela 7.1).

Estrutura do Receptor Antigênico das Células B

As IgM e IgD de membrana, que são os receptores antigênicos da célula B *naive*, possuem caudas citoplasmáticas curtas que consistem em apenas três aminoácidos (lisina, valina e lisina). Essas caudas são muito pequenas para transduzir os sinais gerados após o reconhecimento do antígeno. Os sinais mediados por Ig são liberados por duas outras moléculas chamadas Igα e Igβ, que estão unidas uma à outra por ligações dissulfeto e são expressas em células B associadas de forma não covalente à Ig de membrana (Fig. 7.18). Nas células B, essas proteínas exercem funções semelhantes àquelas das proteínas CD3 e ζ na sinalização do TCR. Elas contêm motivos ITAM em suas caudas citoplasmáticas, são necessárias para o transporte de moléculas de Ig de membrana para a superfície celular e, juntamente com a Ig de membrana, formam o **complexo BCR**. As caudas de Igα e Igβ estão fisicamente associadas às tirosina quinases da família Src, incluindo Lyn, Fyn e Blk. Os complexos BCR nas células B que sofreram troca de classe, incluindo células B de memória, contêm Igs de membrana que podem ser das classes IgG, IgA ou IgE (Capítulo 12).

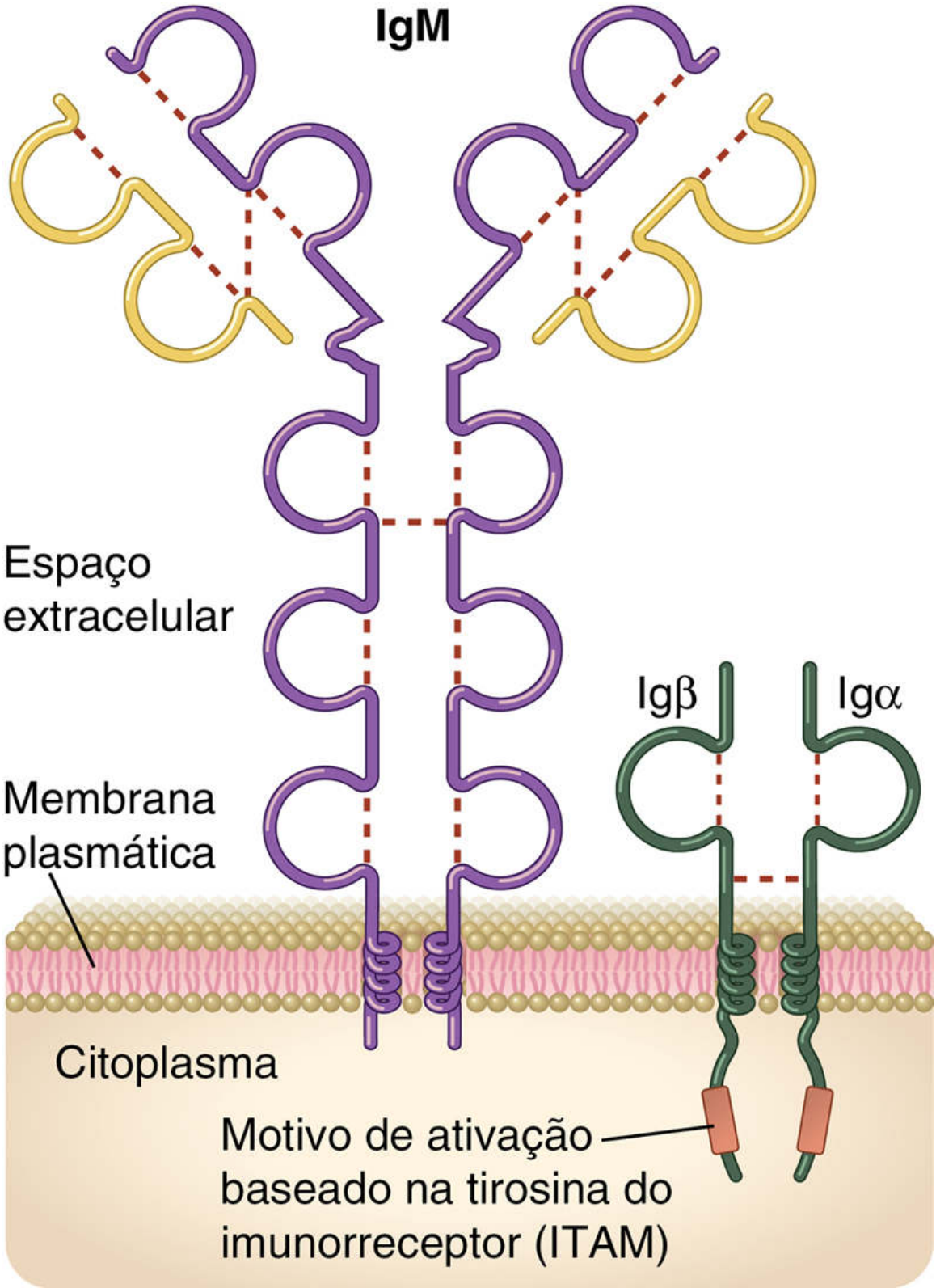


FIGURA 7.18 Complexo receptor antigênico das células B. As IgM (e IgD) de membrana na superfície de células B maduras estão associadas às moléculas invariáveis Igβ e Igα, que contêm

ITAMs nas suas caudas citoplasmáticas que medeiam funções de sinalização. Note a semelhança com o complexo TCR.

Iniciação do Sinal pelo Receptor das Células B

A iniciação do sinal por antígenos ocorre pela ligação cruzada ao BCR. A ligação cruzada da Ig de membrana por antígenos multivalentes aproxima moléculas da família de quinases Src, como Lyn, umas às outras. A interação física subsequente das moléculas da família de quinases Src ativa essas enzimas, permitindo-lhes fosforilar os resíduos de tirosina nos ITAMs de Igα e Igβ. A fosforilação dos resíduos de tirosina dos ITAMs aciona todos os eventos de sinalização *downstream* ao BCR (Fig. 7.19). Os receptores Ig ligados cruzadamente entram nas balsas lipídicas, onde muitas proteínas adaptadoras e moléculas de sinalização se concentram. A Igα e Igβ são frouxamente conectadas à tirosina quinases da família Src tais como Lyn, Fyn e Blk, e essas enzimas estão também ligadas por âncoras lipídicas ao interior da membrana plasmática. Os resíduos de tirosina fosforilados nos ITAMs de Igα e Igβ formam um sítio de ancoragem para os domínios SH2 em tandem da tirosina quinase Syk. A Syk é homóloga à ZAP-70 e possui funções semelhantes na células B àquelas da ZAP-70 nas células T. A Syk é ativada quando se associa às tirosinas fosforiladas dos ITAMs e pode ela própria ser fosforilada em resíduos de tirosina específicos por quinases da família Src associadas ao BCR, levando a uma maior ativação. Ambas, as quinases da família Src e Syk, contribuem para a ativação de Btk, uma importante tirosina quinase em células B, a qual é discutida posteriormente. Se o antígeno é monovalente e incapaz de realizar ligações cruzadas com múltiplas moléculas de Ig, alguma sinalização pode ocorrer mesmo assim, mas a ativação adicional pelas células T auxiliares pode ser necessária para ativar completamente as células B, como discutido no Capítulo 12.

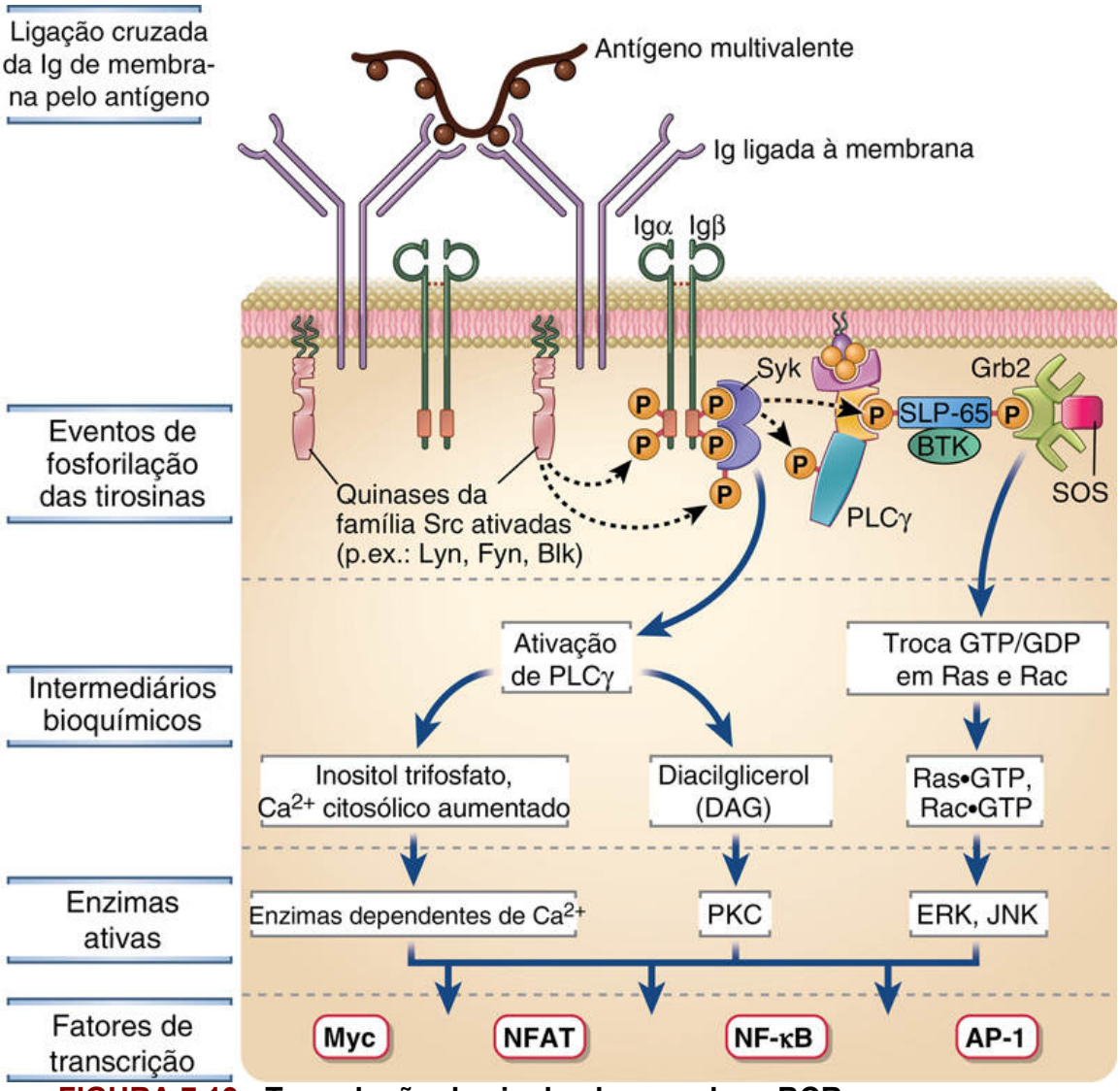


FIGURA 7.19 **Transdução de sinal pelo complexo BCR.**
A ligação cruzada de Ig da membrana induzida pelo antígeno em células B leva ao agrupamento e ativação de tirosina quinases da família Src e à fosforilação da tirosina dos ITAMs nas caudas citoplasmáticas das moléculas de Igα e Igβ. Isso resulta na ancoragem de Syk e eventos subsequentes de fosforilação da tirosina, como apresentado. Várias cascatas de sinalização acompanham esses eventos, como mostrado, levando à ativação de vários fatores de transcrição. Essas vias de transdução de sinal são semelhantes àquelas descritas nas células T.

Papel do Receptor do Complemento CR2/CD21 como Correceptor das Células B

A ativação das células B é intensificada por sinais fornecidos por proteínas do complemento e pelo complexo correceptor CD21, os quais conectam a imunidade inata à resposta imune humoral adaptativa (Fig. 7.20). Moléculas da superfície microbiana e polissacarídeos podem ativar o sistema complemento pelas vias alternativa e da lectina durante respostas imunes inatas, na ausência de anticorpos (Capítulos 4 e 13). Proteínas e outros antígenos que não ativam o complemento diretamente podem estar ligados a anticorpos preexistentes ou a anticorpos produzidos no início da resposta, e esses complexos antígeno-anticorpo ativam o complemento pela via clássica. Lembre-se de que a ativação do complemento resulta na clivagem proteolítica das proteínas do complemento. O componente-chave do sistema é uma proteína chamada C3 e a sua clivagem resulta na produção de uma molécula chamada C3b que se liga covalentemente ao microrganismo ou ao complexo antígeno-anticorpo. O C3b é então adicionalmente degradado a um fragmento chamado C3d, que permanece ligado à superfície microbiana ou ao complexo antígeno-anticorpo. Os linfócitos B expressam um receptor para C3d chamado receptor de complemento do tipo 2 (CR2, ou CD21). O complexo de C3d e antígeno ou de C3d e complexo antígeno-anticorpo se liga às células B, sendo que a Ig de membrana reconhece o antígeno e o CR2 reconhece o C3d ligado (Fig. 7.19).

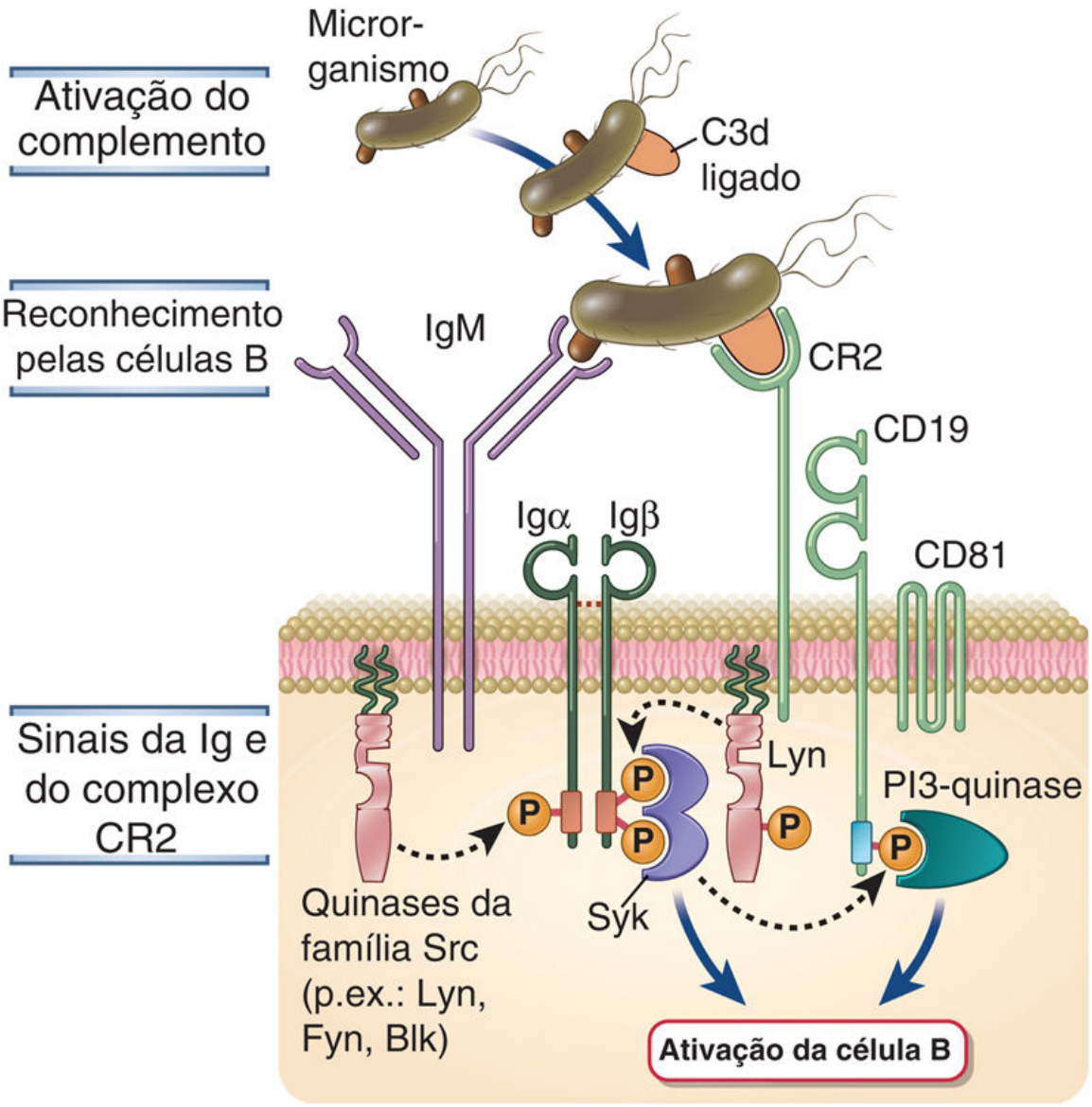


FIGURA 7.20 Papel do complemento na ativação da célula B. As células B expressam um complexo formado pelo receptor do complemento CR2, CD19, e CD81. Os antígenos microbianos que possuem o fragmento do complemento C3d ligado podem simultaneamente se acoplar tanto à molécula CR2 quanto à Ig de membrana na superfície de uma célula B. Isso leva ao início da cascata de sinalização de ambos, complexo BCR e complexo CR2, uma vez que a resposta aos complexos C3d-antígeno é muito aumentada em comparação com a resposta ao antígeno sozinho.

O CR2 é expresso em células B maduras como um complexo com duas outras proteínas de membrana, CD19 e CD81 (também chamado TAPA-1). O complexo CR2-CD19-CD81 é frequentemente chamado complexo correceptor da célula B, porque o CR2 se liga aos antígenos através do C3d

ligado, ao mesmo tempo que a Ig de membrana liga-se diretamente ao antígeno. A ligação de C3d ao receptor de complemento da célula B aproxima CD19 às quinases associadas ao BCR e a cauda citoplasmática de CD19 se torna rapidamente fosforilada na tirosina. Isso leva à ativação da quinase PI3, a qual gera PIP3, que por sua vez se liga e ativa Btk e PLCγ2 de maneira análoga àquela mostrada para a ativação de PDK1 em células T na Figura 7.12. O resultado líquido da ativação do correceptor é que a resposta da célula B estimulada pelo antígeno é bastante intensificada.

Vias de Sinalização *Downstream* ao Receptor das Células B

Após a ligação do antígeno ao BCR, a Syk e outras tirosina quinases ativam numerosas vias de sinalização* downstream *que são reguladas por proteínas adaptadoras (Fig. 7.19). A ativação do BCR resulta na fosforilação de ITAMs associados e no recrutamento da Syk para os ITAMs, seguido da ativação da função quinase de Syk. A Syk ativada fosforila resíduos de tirosina cruciais em proteínas adaptadoras, tais como SLP-65 (fosfoproteína leucocitária de ligação à SH2 de 65 kDa, também chamada BLNK, ou proteína de ligação de células B). Isso facilita o recrutamento para essas proteínas adaptadoras de outras enzimas contendo domínios SH2 e domínios de ligação à fosfotirosina (PTB, do inglês *phosphotyrosine-binding*), incluindo as proteínas de troca do nucleotídeo guanina que podem ativar separadamente Ras e Rac, PLCγ2, e a tirosina quinase Btk, dentre outras. O recrutamento facilita a ativação desses efetores *downstream*, cada um geralmente contribuindo para a ativação de uma via de sinalização distinta.

- A **via Ras-MAP quinase** é ativada nas células B estimuladas por antígenos. O fator de troca de GTP/GDP, SOS, é recrutado para SLP-65 através da ligação da proteína adaptadora Grb-2; Ras é então convertida por SOS de uma forma inativa ligada à GDP para uma forma ativa ligada ao GTP. A Ras ativada contribui para a ativação da via MAP quinase ERK discutida anteriormente no contexto de sinalização de células T. Em paralelo, a ativação de Rac, uma proteína G pequena, pode contribuir para a ativação da via da MAP quinase JNK.
- Uma **fosfolipase C (PLC, do inglês, *phospholipase C*) específica para fosfatidilinositol** é ativada em resposta à sinalização do BCR que, por sua vez, facilita a ativação das vias de sinalização

downstream. Nas células B, a isoforma dominante de PLC é a isoforma γ2, enquanto as células T expressam a isoforma relacionada γ1 da enzima. A PLCγ2 torna-se ativa quando se liga à BLNK e é fosforilada por Syk e Btk. Como descrito no contexto da sinalização do TCR, a PLC ativa quebra o PIP2 de membrana para produzir IP3 solúvel e deixa DAG na membrana plasmática. O IP3 mobiliza o cálcio a partir dos estoques intracelulares, causando uma rápida elevação da concentração dos íons cálcio citoplasmáticos, a qual é posteriormente aumentada por um influxo de cálcio do meio extracelular. Na presença de cálcio elevado, o DAG ativa algumas isoformas de PKC (principalmente PKC-β nas células B), as quais fosforilam as proteínas *downstream* em resíduos de serina/treonina.

- A ativação de **PKC-β** *downstream* à do BCR contribui para a ativação do NF-κB nas células B estimuladas pelo antígeno. Esse processo é semelhante ao ocorrido em células T, desencadeado por PKC-θ, a isoforma da PKC presente nas células T.
- Como descrito para a ativação das células T (Fig. 7.12), a fosforilação de motivos específicos contendo tirosinas em diversos adaptadores nas células B permite o recrutamento e ativação da **quinase PI3**. Essa enzima facilita eventos celulares cruciais, incluindo a sobrevivência da célula, em células B ativadas.

Essas cascatas de sinalização por fim levam à ativação de fatores de transcrição que induzem a expressão de genes cujos produtos são necessários para as respostas funcionais de células B. Alguns dos fatores de transcrição ativados pela transdução de sinal mediada pelo receptor antigênico em células B são Fos (*downstream* à ativação de Ras e ERK), JunB (*downstream* à ativação de Rac e JNK), e NF-κB (*downstream* à ativação de Btk, PLCγ2, e de PKC-β). Descrevemos esses fatores anteriormente, quando discutimos as vias de sinalização das células T. Esses e outros fatores de transcrição, muitos não mencionados aqui, estão envolvidos na estimulação da proliferação e diferenciação das células B (Capítulo 12).

As mesmas vias de sinalização são utilizadas por IgM e IgD de membrana em células B *naive* e por IgG, IgA, e IgE nas células B que tenham sofrido mudança do isotipo, porque todos esses isotipos da membrana associam-se a Igα e Igβ.

Atenuação da Sinalização dos Receptores Imunológicos

A ativação de linfócitos precisa ser rigorosamente controlada para limitar as respostas imunes contra antígenos estranhos, com a finalidade de evitar danos colaterais aos tecidos do hospedeiro. Além disso, o sistema imune precisa de mecanismos que previnam reações contra autoantígenos. Descreveremos a biologia desses mecanismos de controle nos próximos capítulos, principalmente no Capítulo 15. Aqui discutiremos os mecanismos bioquímicos que servem para limitar e finalizar a ativação de linfócitos.

A sinalização de inibição dos linfócitos é mediada primariamente por receptores inibidores e também por enzimas conhecidas como ubiquitina ligases E3 que marcam certas moléculas de sinalização para a degradação. Os receptores inibidores normalmente recrutam e ativam fosfatases que revertem os eventos de sinalização induzidos pelos receptores antigênicos (Fig. 7.21). As respostas funcionais de todas as células são reguladas por um equilíbrio entre os sinais estimuladores e inibidores e descreveremos primeiro, de uma perspectiva mecanística ampla, como os receptores inibidores podem funcionar em células NK, células T e células B. Descreveremos então como as ubiquitina ligases E3 podem atenuar a sinalização em linfócitos. A relevância biológica da atenuação do sinal através dos receptores inibidores nas células NK, células T e células B está descrita nos Capítulos 4, 9 e 12, respectivamente.

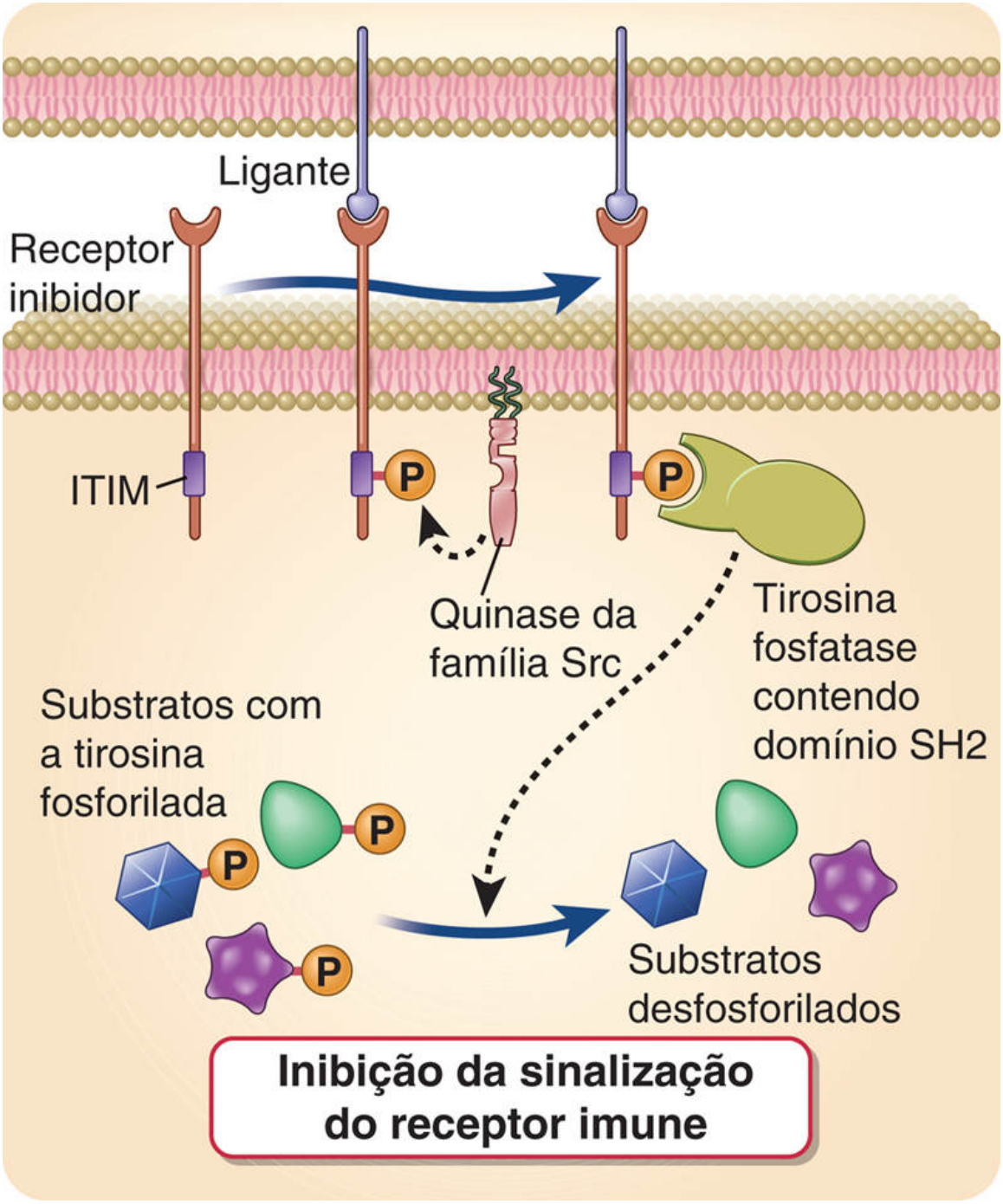


FIGURA 7.21 **Sinalização inibitória dos linfócitos.**
Uma representação esquemática é mostrada de um receptor de inibição com domínio de ligação ao ligante extracelular e um motivo ITIM citosólico. A ligação ao ligante resulta na fosforilação da tirosina do ITIM por uma quinase da família Src, seguida pelo recrutamento de uma tirosina fosfatase contendo domínio SH2 que pode remover fostafos de intermediários da sinalização e assim atenuar a sinalização do receptor imune.

Receptores Inibidores das Células *Natural Killer*, Células B e Células T

A maioria, mas não todos os receptores inibidores no sistema imune, contém motivos ITIM nas suas caudas citoplasmáticas que podem recrutar as fosfatases contendo domínios SH2 e assim atenuar a sinalização de uma forma amplamente semelhante (Fig. 7.21). Os receptores inibidores desempenham papéis fundamentais nas células NK, células T e células B, assim como em outras células da imunidade inata.

Nas células NK, receptores inibidores chamados KIRs (Capítulo 4) contêm domínios extracelulares de Ig que podem reconhecer as moléculas de HLA de classe I, e um subconjunto destes receptores contém motivos ITIM citosólicos. O receptor inibidor CD94/NKG2A se liga a uma molécula de MHC de classe I atípica chamada HLA-E, e a cadeia de NKG2A desse dímero contém motivos ITIM citosólicos.

Os resíduos de tirosina nos ITIMs desses e de outros receptores inibidores podem ser fosforilados pelas quinases da família Src ligadas à ativação de linfócitos e, como descrito anteriormente, recrutam tirosina fosfatases contendo domínio SH2, tais como SHP-1 e SHP-2 e uma inositol fosfatase contendo domínio SH2 chamada SHIP. SHP-1 e SHP-2 atenuam a sinalização iniciada pelas tirosina quinases a partir de receptores de ativação em células NK, assim como do BCR e do TCR em células B e T, respectivamente. A SHIP remove porções fosfato de PIP3 e, como descrito anteriormente, inibe a atividade da quinase PI3 linfócitos, células NK e células da imunidade inata.

Os principais receptores inibidores de células T são proteínas da família de CD28. Uma destas, **CTLA-4** (também chamada CD152), tem maior afinidade por proteínas B7 do que CD28, e é um inibidor competitivo das interações B7-CD28. É inusitado que CTLA-4 seja capaz de inibir as respostas imunes competindo com um receptor de ativação (CD28) pelos seus ligantes, os coestimuladores B7, e aparentemente não o fazendo por meio da liberação de sinais bioquímicos inibitórios. CTLA-4 está envolvido na manutenção da não responsividade (tolerância) aos antígenos próprios e é discutido neste contexto, no Capítulo 15. Outro receptor de inibição da mesma família é chamado **PD-1** (do inglês, *programmed death 1*), e este assunto também é discutido no Capítulo 15. O PD-1 contém motivos citosólicos ITIM e ITSM, os quais provavelmente contribuem para os sinais inibidores que bloqueiam a ativação de células T mediada pelo complexo TCR.

O FcγRIIB é um importante atenuador da sinalização em células B ativadas, bem como nas células dendríticas e macrófagos. Pode se ligar a imunocomplexos contendo IgG através de domínios extracelulares de Ig e primariamente recruta o SHIP e antagoniza a sinalização da PI3 quinase. Esse receptor reduz a ativação das células B após a produção de anticorpos e será discutido em mais detalhes no Capítulo 12.

Degradação Ubiquitina-Dependente de Proteínas Sinalizadoras

Um dos principais modos de degradação de proteínas citosólicas e nucleares envolve a ligação covalente de resíduos de ubiquitina a essas proteínas. Apesar da ubiquitinação de proteínas estar frequentemente associada à degradação dessas proteínas em proteossomas, as proteínas podem ser ubiquitinadas de muitas maneiras, com cada forma de ubiquitinação desempenhando uma função muito diferente. No contexto da transdução de sinal, dois tipos distintos de ubiquitinação medeiam a atenuação do sinal de um lado e a geração do sinal do outro.

A ubiquitinação foi brevemente discutida no Capítulo 6, no contexto do processamento antigênico pela via do MHC de classe I. A ubiquitina é uma proteína de 76 aminoácidos, cuja ativação dependente de ATP é mediada por uma enzima E1, seguida pela transferência para uma enzima E2, a qual se liga à ubiquitina ativada por meio de resíduos de lisina em substratos específicos que são reconhecidos por ubiquitina ligases E3 específicas. Em muitos casos, depois que a região C-terminal de uma porção da ubiquitina é covalentemente ligada a um resíduo de lisina na proteína alvo, as extremidades C-terminais de porções das ubiquitinas subsequentes podem ser ligadas covalentemente a resíduos de lisina da ubiquitina anterior para gerar uma cadeia de poliubiquitina. A forma da cadeia de poliubiquitina é diferente dependendo de qual resíduo de lisina específico na molécula de ubiquitina precedente na cadeia é o sítio da ligação covalente da próxima molécula de ubiquitina, e a forma dessa cadeia tem consequências funcionais importantes. Se a lisina na posição 48 da primeira porção de ubiquitina formar uma ponte isopeptídica com o C-terminal da próxima ubiquitina, e assim por diante, será gerada uma cadeia de ubiquitina do tipo lisina-48 que pode ser reconhecida pela tampa do proteassoma, e a proteína ubiquitinada será marcada para degradação no proteassoma. Algumas ligases E3 geram um tipo diferente de cadeia de poliubiquitina, a qual não marca proteínas para degradação mas, em vez disso, gera uma estrutura para o acoplamento das proteínas marcadas a

outras proteínas específicas; isso é importante na sinalização do NF-κB, conforme discutido mais adiante. Em algumas funções, em particular na marcação de proteínas de membrana para os lisossomos em vez dos proteossomos, a ligação de apenas uma única ubiquitina a uma proteína-alvo pode ser necessária.

Várias ligases E3 são encontradas em células T; algumas estão envolvidas na ativação do sinal e outras na atenuação do sinal. O protótipo das ligases E3 envolvidas na finalização das respostas de células T é a Cbl-b, mas muitas outras possuem funções semelhantes. O recrutamento de Cbl-b ao complexo TCR e proteínas adaptadoras associadas leva à monoubiquitinação, endocitose e degradação lisossomal do complexo TCR, e isso pode ser um mecanismo para a atenuação da sinalização do TCR (Fig. 7.22). Os sinais de CD28 bloqueiam a atividade inibidora de Cbl-b, e esse é um mecanismo pelo qual a coestimulação aumenta os sinais do TCR. Em camundongos *knockout* que não têm Cbl-b, as células T respondem ao antígeno mesmo sem a coestimulação mediada pelo CD28 e produzem quantidades anormalmente elevadas de IL-2. Esses camundongos desenvolvem autoimunidade como resultado da ativação aumentada de suas células T. Há algumas evidências de que antígenos que desativam as respostas imunes (conhecidos como antígenos tolerogênicos, tais como os autoantígenos) ativam ubiquitina ligases nas células T, as quais degradam proteínas de sinalização essenciais, e esse é um mecanismo de não responsividade induzida pelo antígeno chamada *anergia* (Capítulo 15).

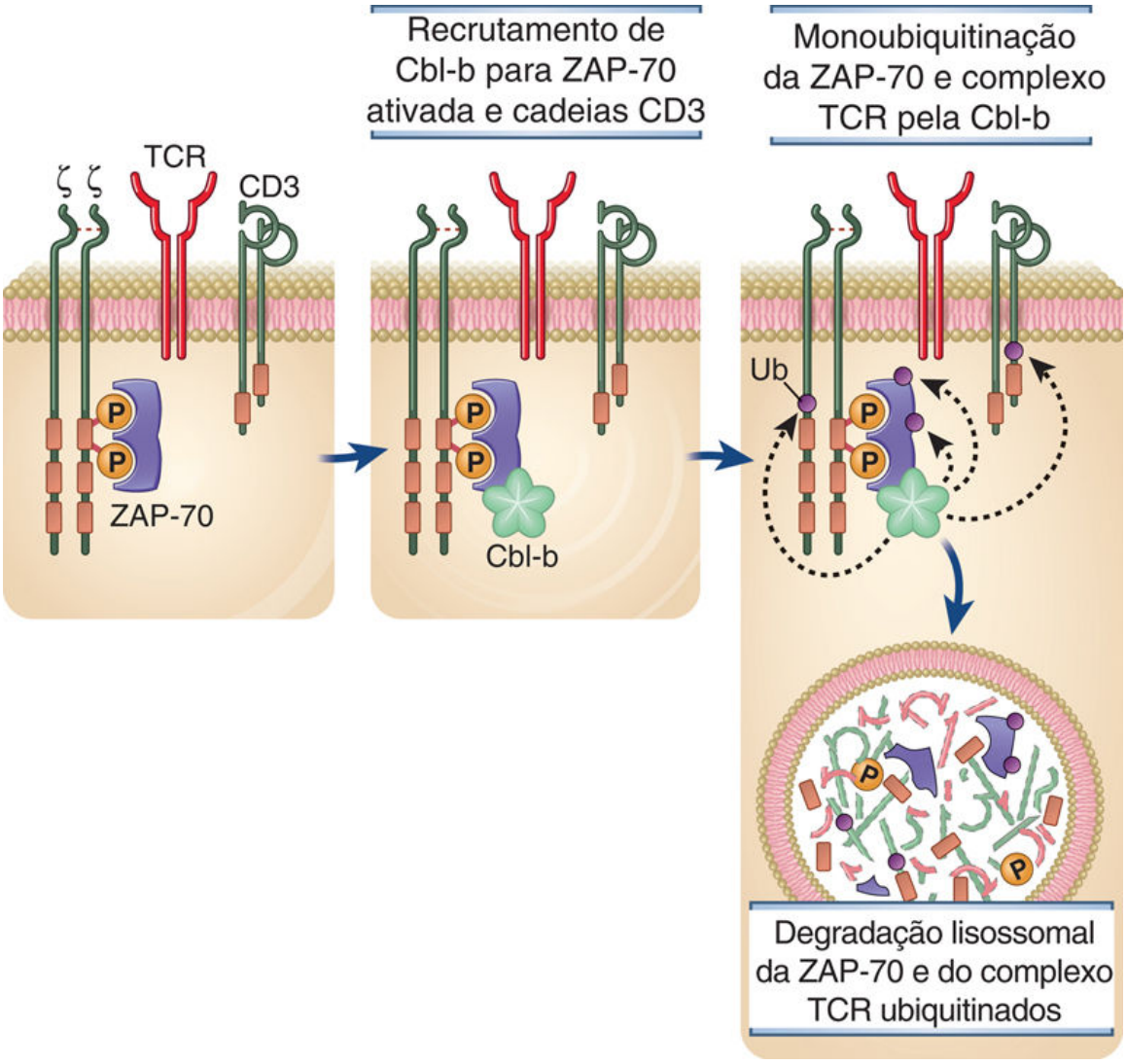


FIGURA 7.22 Papel da ubiquitina ligase Cbl-b na finalização das respostas de células T.
A Cbl-b é recrutada para o complexo TCR, onde facilita a monoubiquitinação de CD3, ZAP-70, e outras proteínas do complexo TCR. Essas proteínas são alvo para degradação proteolítica nos lisossomos e outras organelas (*não mostrado*).

Receptores de Citocina e Sinalização

Citocinas, as moléculas mensageiras secretadas pelo sistema imune, foram mencionadas nos capítulos anteriores e o serão ao longo do livro. Aqui, descreveremos os receptores de citocinas e os seus mecanismos de sinalização.

Todos os receptores de citocinas consistem em uma ou mais proteínas transmembrana cujas porções extracelulares são responsáveis pela ligação à citocina e cujas porções citoplasmáticas são responsáveis pela iniciação das vias de sinalização intracelular. Para a maioria dos receptores de citocinas, essas vias de sinalização são ativadas pelo agrupamento do receptor induzido pelo ligante, aproximando as porções citoplasmáticas de duas ou mais moléculas de receptor, e assim induzindo a atividade de tirosina quinases não receptoras únicas. No caso da família do receptor da citocina TNF, trímeros pré--formados do receptor aparentemente sofrem uma mudança conformacional após entrar em contato com seus ligantes triméricos cognatos.

Classes de Receptores de Citocinas

A classificação mais utilizada dos receptores de citocinas está baseada em homologias estruturais dos domínios extracelulares de ligação à citocina e nos mecanismos de sinalização intracelulares compartilhados (Fig. 7.23). Os mecanismos de sinalização utilizados pelas famílias individuais são considerados na seção a seguir.

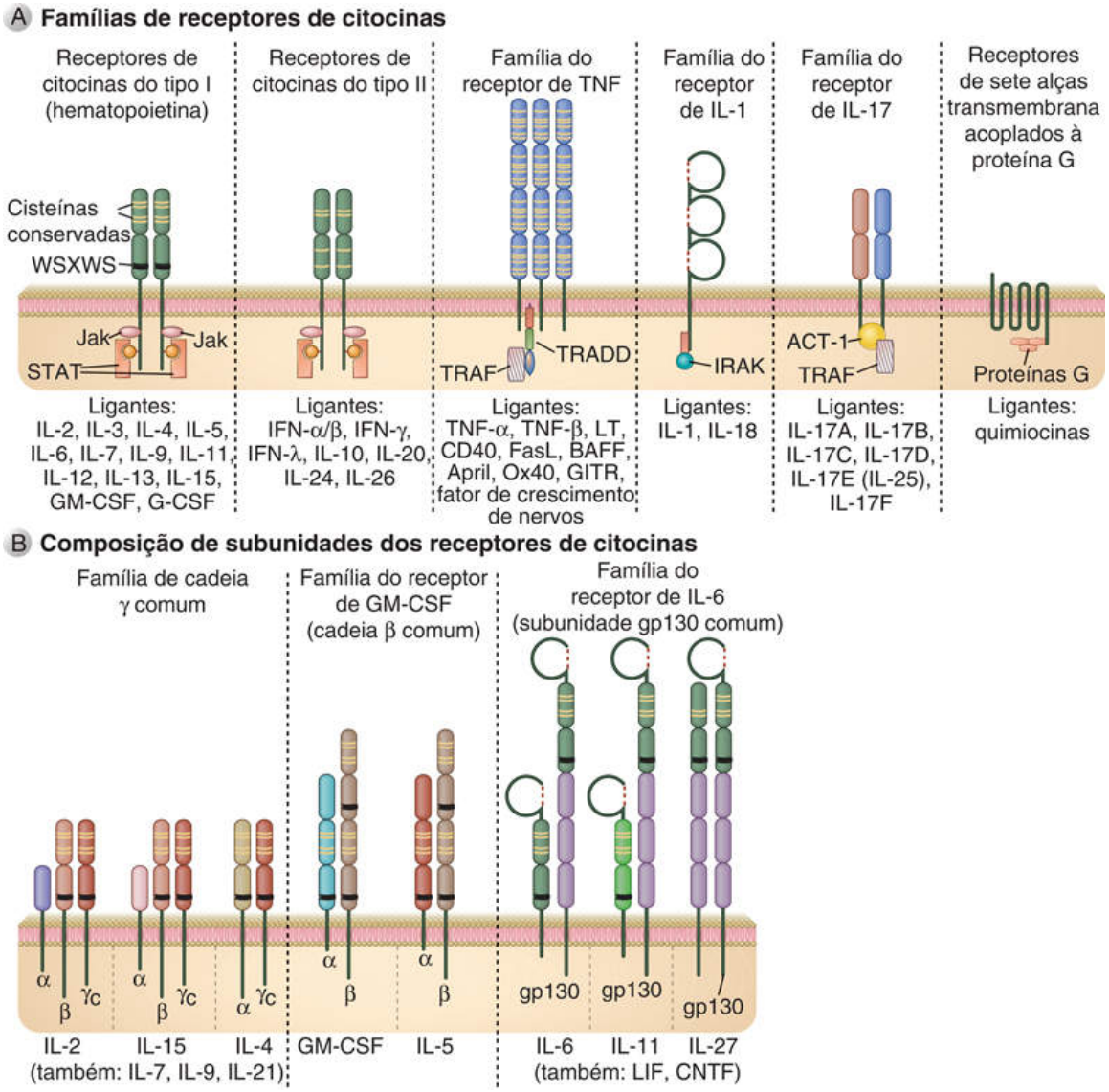


FIGURA 7.23 Estrutura dos receptores de citocinas.
A, Receptores para diferentes citocinas são classificados em famílias com base nas estruturas de domínios extracelulares conservados e nos mecanismos de sinalização. As citocinas representativas ou outros ligantes que se ligam a cada família de receptores estão listados abaixo dos desenhos esquemáticos. *WSXWS*, triptofano-serina-X-serina-triptofano. **B,** Grupos de receptores de citocinas compartilham cadeias de subunidades idênticas ou altamente homólogas. Exemplos de receptores de citocinas selecionados de cada grupo são apresentados. Na família da cadeia γ comum, os receptores de IL-2 e IL-15 compartilham uma cadeia β, CD122. Na família da cadeia β comum, a cadeia β compartilhada é CD131.

Receptores de Citocina do Tipo I (Família do Receptor de Hematopoietina)

Os receptores de citocina do tipo I são dímeros ou trímeros que consistem tipicamente em cadeias únicas de ligação ao ligante e uma ou mais cadeias de transdução de sinal, as quais são frequentemente compartilhadas pelos receptores de diversas citocinas. Essas cadeias contêm um ou dois domínios com um par de resíduos de cisteína conservados e um trecho peptídico proximal de membrana contendo um motivo triptofano-serina-X-triptofano-serina (WSXWS), onde X é qualquer aminoácido (Fig. 7.23A). As sequências conservadas dos receptores formam estruturas que ligam citocinas contendo quatro feixes de α-hélices e são referidas como citocinas do tipo I, mas a especificidade para as citocinas individuais é determinada por resíduos de aminoácidos que variam de um receptor para outro. Essa família de receptores pode ser dividida em subgrupos com base em homologias estruturais ou no uso de polipeptídeos de sinalização compartilhados (Fig. 7.23B). Um grupo, que inclui os receptores de IL-2, IL-4, IL-7, IL-9, IL-15 e IL-21, contém um componente de sinalização chamado cadeia γ comum (γ_c, ou CD132). Dentro desse subgrupo, alguns receptores compartilham uma ou duas subunidades de cadeia β (CD122 ou CD131) e outros perdem uma cadeia β. Outro subgrupo de receptores de citocinas do tipo I inclui receptores para IL-6, IL-11 e IL-27, e utiliza a cadeia de sinalização gp130. Todos os receptores de citocinas do tipo I engajam vias de sinalização JAK-STAT, discutidas mais adiante.

Receptores de Citocina do Tipo II (Família do Receptor de Interferon)

Os receptores do tipo II são semelhantes aos receptores do tipo I por terem dois domínios extracelulares com cisteínas conservadas; entretanto, os receptores do tipo II não contêm o motivo WSXWS. Todos os receptores de citocina do tipo II, assim como os receptores do tipo I, engajam vias de sinalização JAK-STAT. Essa família inclui receptores para os interferons do tipo I e tipo II, bem como para a IL-10, IL-20 e IL-22.

Família do Receptor de TNF

Esses receptores são parte de uma grande família de trímeros pré-formados (alguns dos quais reconhecem ligantes associados à membrana e não são considerados receptores de citocinas) com domínios extracelulares

conservados ricos em cisteína e mecanismos de sinalização intracelular compartilhados que normalmente estimulam a expressão gênica, mas em alguns casos induzem apoptose. Os receptores importantes dessa família serão discutidos em outros capítulos em seus contextos biológicos; eles incluem os receptores de TNF, TNFRI e TNFRII, a proteína CD40, Fas, o receptor de linfotoxina e a família de receptores de BAFF, dentre outros. Os ligantes para esses receptores também formam trímeros. Alguns desses ligantes estão ligados à membrana, enquanto outros são solúveis.

A ligação dos ligantes aos receptores triméricos pré-formados induz tipicamente uma alteração conformacional e recruta proteínas adaptadoras para o complexo receptor. Esses adaptadores, por sua vez, recrutam enzimas que incluem tanto ubiquitina ligases E3, mediadoras da poliubiquitinação não degradativa, quanto proteínas quinases, que iniciam a sinalização *downstream*. No caso do receptor de TNF ilustrado na Figura 7.24, o receptor recruta a proteína adaptadora domínio de morte associado ao receptor de TNF (TRADD, do inglês *TNF receptor-associated death domain*) que, por sua vez, pode recrutar proteínas chamadas TRAFs (do inglês *TNF receptor associated factors*), as quais possuem um tipo único de atividade ligase E3, que será discutida na seção sobre a sinalização de NF-κB. O receptor de TNF do tipo I (existem dois tipos de receptores diferentes para o TNF) e o Fas (CD95) podem também recrutar adaptadores que levam à ativação da caspase-8 e dessa maneira, esses receptores podem induzir apoptose em certas células.

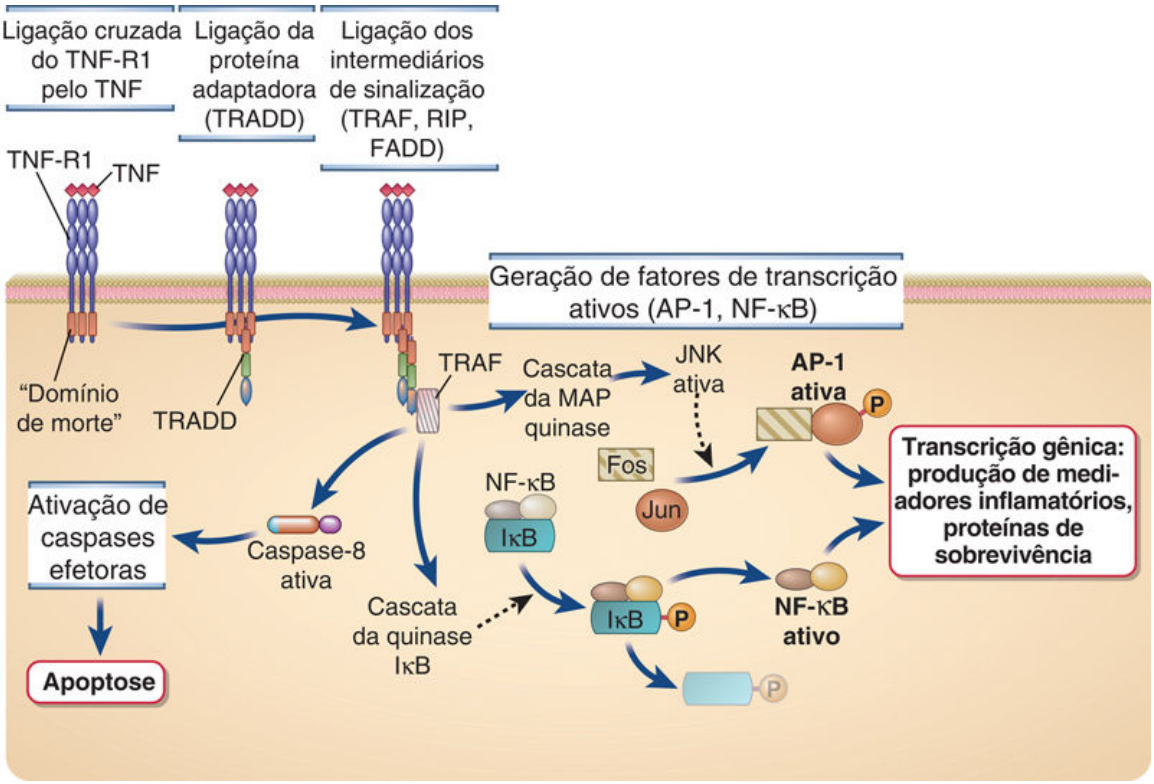


FIGURA 7.24 A sinalização através do receptor de TNF pode resultar na ativação de NF-κB e de MAP quinase ou na indução de morte apoptótica.
A ligação do receptor de TNF do tipo I resulta no recrutamento de uma proteína adaptadora chamada TRADD, que por sua vez pode ativar as moléculas TRAF (ubiquitina ligases E3) e RIP1 quinase. As consequências *downstream* incluem a ativação da via do NF-κB e da via JNK MAP quinase ou a indução da morte apoptótica.

Família da IL-1

Os receptores desta família compartilham uma sequência citosólica conservada, o chamado domínio receptor de IL-1/*Toll* (TIR, do inglês *Toll/IL-1 receptor*), e engajam vias de transdução de sinal semelhantes que induzem nova transcrição gênica. A sinalização dos receptores do tipo Toll (TLRs, do inglês *Toll-like receptors*) foi discutida no Capítulo 4. Resumidamente, o engajamento de IL-1R ou de TLRs resulta na dimerização do receptor e no recrutamento de um ou mais entre quatro adaptadores conhecidos contendo o domínio TIR ao domínio TIR da cauda citoplasmática do receptor. Os adaptadores conectam os TLRs aos diferentes membros da família da quinase associada ao receptor de IL-1 (IRAK, do inglês *IL-1 receptor-associated kinase*). As IRAKs, por sua vez,

conectam os adaptadores à TRAF6, uma ubiquitina ligase E3 necessária para a ativação do NF-κB. Outros eventos *downstream* à sinalização de TLR incluem a ativação de MAP quinase e a fosforilação de IRF3 e IRF7, indutores da transcrição de interferon do tipo I. Este último aspecto da sinalização de TLR tem sido considerado no contexto do estado antiviral no Capítulo 4. Diferentes adaptadores conectam os TLRs à sinalização do NF-κB, ativação da MAP quinase e ativação de IRF3. Os mecanismos que conectam a sinalização de IL-1R/TLR e ativação do NF-κB são discutidos mais adiante.

Família da IL-17

Os receptores desta família são oligômeros pré-formados que incluem várias combinações das cadeias A, B, C, D e E do IL-17R. Os oligômeros do receptor incluem pelo menos uma molécula da cadeia IL-17RA. Cada cadeia do receptor é uma proteína integral de membrana do tipo I que contém dois domínios extracelulares de fibronectina do tipo III e um motivo intracelular SEFIR, o qual tem homologia parcial ao motivo TIR discutido no contexto da sinalização do receptor de IL-1. Entretanto, o motivo SEFIR não recruta adaptadores que se ligam aos TLRs e ao receptor de IL-1.

O motivo SEFIR encontrado nas cadeias do receptor de IL-17 se liga ao adaptador ACT-1 que também contém um motivo SEFIR e que contribui para o recrutamento de TRAF6 e leva à ativação de NF-κB. Motivos citoplasmáticos adicionais são necessários para a ativação de muitas outras vias, incluindo a via ERK e a família C/EBP de fatores de transcrição.

Existem muitas citocinas diferentes da família da IL-17, e em capítulos subsequentes será dada ênfase principalmente às citocinas mais bem caracterizadas no contexto de autoimunidade e inflamação, como IL-17A e IL-17F. IL-17 B, C e D permanecem pobremente caracterizadas e IL-17E, também conhecida como IL-25, direciona respostas Th2. Homodímeros de IL-17A e de IL-17F se ligam a heterodímeros pré-formados por IL-17RA e IL-17RC. A IL-17E/IL-25 se liga a um dímero contendo IL-17RB e IL-17RA.

Sinalização por Janus Quinases, Transdutores de Sinal e Ativadores de Transcrição

Os receptores de citocina das famílias de receptores do tipo I e do tipo II utilizam vias de transdução de sinal que envolvem tirosina quinases não receptoras chamadas de Janus quinases (JAKs) e fatores de transcrição

chamados transdutores de sinais e ativadores de transcrição (STATs). A descoberta das vias JAK-STAT ocorreu em decorrência de análises bioquímicas e genéticas da sinalização do interferon. Existem quatro JAKs conhecidas (JAKs 1-3 e TYK2) e sete STATs (STATs 1-4, 5a, 5b, e 6).

A sequência de eventos das vias de sinalização JAK-STAT está bem definida agora (Fig. 7.25). Enzimas JAK inativas estão ligadas de maneira não covalente aos domínios citoplasmáticos de receptores de citocinas do tipo I e do tipo II. Quando duas moléculas do receptor são unidas pela ligação a uma molécula de citocina, as JAKs associadas ao receptor são ativadas e fosforilam resíduos de tirosina nas porções citoplasmáticas dos receptores agrupados. Algumas dessas porções de fosfotirosina dos receptores são então reconhecidas e se ligam aos domínios SH2 de proteínas STAT monoméricas citosólicas. As proteínas STAT são assim aproximadas das JAKs e são fosforiladas por essas quinases associadas ao receptor. O domínio SH2 de um monômero de STAT é capaz de se ligar a um resíduo fosfotirosina em uma proteína STAT adjacente. Os dímeros de STAT gerados migram para o núcleo, onde se ligam a sequências de DNA específicas nas regiões promotoras de genes responsivos a citocinas e ativam a transcrição gênica.

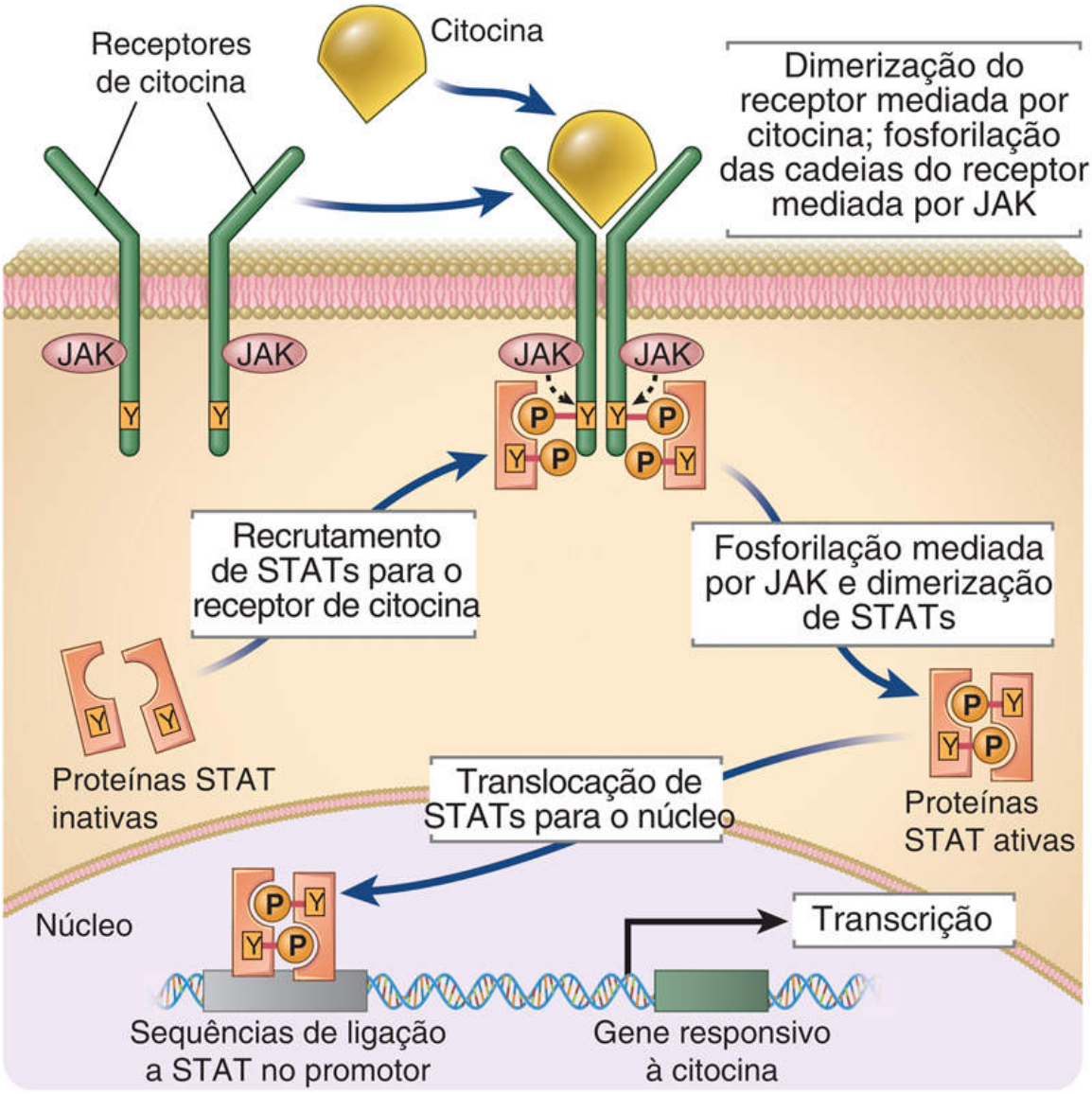


FIGURA 7.25 Sinalização de JAK-STAT induzida por citocinas. A ligação dos receptores de citocinas do tipo I e do tipo II resulta na ativação de uma tirosina quinase JAK associada, a fosforilação da cauda do receptor e o recrutamento de um ativador de transcrição contendo o domínio SH2 (STAT) para o receptor. O STAT recrutado é ativado pela fosforilação de JAK, se dimeriza, entra no núcleo e ativa a expressão de genes-alvo de citocinas.

Uma questão intrigante é como a especificidade das respostas a muitas citocinas diferentes é alcançada, dado o número limitado de JAKs e STATs utilizados pelo grande número de receptores de citocinas. A resposta provável é que sequências de aminoácidos únicas nos diferentes receptores de citocina fornecem o arcabouço para a ligação específica, ativando então diferentes combinações de JAKs e STATs. Os domínios SH2 das diferentes

proteínas STAT ligam-se seletivamente às fosfotirosinas e resíduos flanqueadores de diferentes receptores de citocinas. Isso é amplamente responsável pela ativação de STATs particulares por vários receptores de citocinas e, consequentemente, pela especificidade da sinalização das citocinas. Vários receptores de citocinas do tipo I e do tipo II são heterodímeros de duas cadeias polipeptídicas diferentes, cada uma das quais se liga uma JAK diferente. Além disso, duas STATs diferentes podem sofrer heterodimerização na fosforilação. Assim, uma quantidade significativa de diversidade combinatorial na sinalização pode ser gerada a partir de um número limitado de proteínas JAK e STAT. Todos os receptores de citocinas do subgrupo tipo I que utilizam a cadeia γ comum utilizam a JAK3 quinase para sinalização. A JAK3 é a única JAK quinase que não é expressa ubiquamente. Sua expressão está amplamente restrita às células imunes e é ativada somente por receptores contendo a cadeia γ_c. Os receptores de citocina do tipo I da família de IL-6 utilizam JAK2 para ativar STAT3. Diversas outras citocinas também ativam STAT3.

Várias JAKs e STATs são relevantes para doenças humanas e são alvo de agentes terapêuticos. Mutações com ganho de função em JAK2 são a causa da síndrome mielodisplásica, com anemia aplástica e policitemia vera. Mutações afetando a cadeia γ_c, ou menos frequentemente, JAK3, causam imunodeficiência severa combinada (Capítulo 21). Mutações dominantes negativas em STAT3 causam um imunodeficiência em decorrência de defeitos nas respostas de IL-17. Mutações ativadoras em STAT3 são apresentações características das leucemias de linfócitos grandes granulares que são proliferações malignas de células da linhagem de células NK ou de células T $CD8^+$. A elucidação da sinalização JAK-STAT tem também levado ao desenvolvimento de novos agentes terapêuticos direcionados para essas vias. Pequenas moléculas antagonistas de JAK têm sido aprovadas para o tratamento de leucemia mieloide aguda e algumas outras malignidades mieloides, e também para o tratamento de certas doenças inflamatórias crônicas, incluindo artrite reumatoide e psoríase.

As citocinas ativam vias de sinalização e fatores de transcrição, além de JAKs e STATs. Por exemplo, a cadeia β do receptor de IL-2 ativa as vias de MAP quinase dependentes de Ras que podem estar envolvidas na transcrição gênica e na estimulação do crescimento. Outros receptores de citocinas podem igualmente ativar outras vias de sinalização em conjunto com as vias JAK-STAT, para elicitar respostas biológicas às citocinas. A proliferação de células T, iniciada em grau considerável por citocinas como a IL-2, é o alvo de algumas pequenas moléculas imunossupressoras. Uma importante proteína quinase *downstream* que regula a tradução de

proteínas e o crescimento celular em muitos tipos celulares, incluindo células T em divisão, é chamada de alvo da rapamicina em mamíferos (mTOR, do inglês, *mammalian target of rapamycin*). Como o seu nome implica, essa proteína é inibida pela rapamicina, um composto imunossupressor clinicamente utilizado.

Diversos mecanismos de regulação negativa das vias JAK-STAT foram identificados. Proteínas chamadas supressoras da sinalização de citocinas (SOCS, do inglês, *suppressors of cytokine signaling*) atuam como adaptadoras para a atividade de ligase E3 multissubunidades. Podem se ligar a STATs e JAKs ativadas, e as ligases E3 firmemente associadas realizam a ubiquitinação de JAKs e STATs direcionando-as para a degradação proteassomal. Os níveis da proteína SOCS podem ser regulados por ligantes de TLR, pelas próprias citocinas e por outros estímulos. Dessa forma, as SOCS atuam como reguladores de *feedback* negativo da ativação de células mediada por citocinas. Outros inibidores da sinalização de JAK-STAT incluem tirosina fosfatases, tais como a SHP-1 e SHP-2, as quais podem desfosforilar e consequentemente desativar as moléculas JAK. Outra família de proteínas inibidoras chamadas inibidores proteicos de STAT ativado (PIAS, do inglês, *protein inhibitors of activated STAT*) liga-se aos STATs fosforilados e impede sua interação com o DNA. Sabe-se agora que as proteínas PIAS também interagem e bloqueiam a função de outros fatores de transcrição associados à sinalização de citocinas, incluindo NF-κB e SMADs (fatores de transcrição *downstream* dos membros da família do receptor de TGF-β).

Vias de Ativação do NF-κB

NF-κB refere-se a um grupo de fatores de transcrição estruturalmente relacionados que desempenham um papel central na inflamação, na ativação de linfócitos, na sobrevivência celular e na formação de órgãos linfoides secundários. Os membros da família do NF-κB são componentes importantes no desenvolvimento dos linfócitos e na patogênese de muitos cânceres, incluindo neoplasias malignas derivadas de linfócitos ativados. O NF-κB é proeminentemente ativado pelas citocinas das famílias da IL-1, TNF e IL-17, e é também induzido pela estimulação de TLR e pelo reconhecimento antigênico. Ele é discutido aqui como o protótipo de um fator de transcrição com papéis fundamentais na imunidade inata e adaptativa.

Existem cinco proteínas NF-κB. O domínio comum a todas as proteínas NF-κB é um domínio de ligação ao DNA chamado domínio de homologia

Rel. Para um fator de transcrição estar ativo, deve tanto se ligar ao DNA quanto conter um domínio de ativação que possa facilitar a iniciação transcricional. Três proteínas NF-κB têm os domínios de homologia Rel e os domínios de ativação. São eles: p65/RelA, RelB, e c-Rel. Duas proteínas, NF-κB1/p50 e NF-κB2/p52, contêm um domínio de homologia Rel de ligação ao DNA, mas perdem os domínios de ativação. O NF-κB1 tipicamente forma heterodímeros ativos com p65/RelA ou com c-Rel, e NF-κB2 forma heterodímeros com RelB.

Há duas vias de ativação do NF-κB, chamadas via canônica e via não canônica (Fig. 7.26). Muitos estímulos que ativam NF-κB assim o fazem por induzirem a **via canônica** (daí seu nome). Essa via é ativada por um número de receptores que controlam a inflamação, tais como TLRs, o IL-1R e alguns membros da família do TNFR, como TNFRI. Essa via também é ativada no contexto da ativação de linfócitos pelo BCR e TCR. A via canônica resulta na localização nuclear de heterodímeros transcricionalmente ativos de NF-κB1 com p65/RelA ou com c-Rel. Os heterodímeros contendo NF-κB1/p50 normalmente residem no citosol, ligados a um inibidor de NF-κB chamado **IκBα**, e não podem acessar o núcleo em células não ativadas (Fig. 7.26). A via canônica do NF-κB induz a marcação e degradação de IκBα, permitindo ao fator de transcrição contendo o NF-κB1 heterodimérico irrestrito migrar para o núcleo. Dois tipos muito diferentes de eventos de poliubiquitinação são necessários para a ativação canônica do NF-κB. Existem alguns passos comuns na via canônica que se aplicam a todas as entradas de sinais *upstream*.

- A sinalização *upstream* leva à ativação de um único tipo de ubiquitina ligase E3 que pode adicionar uma cadeia de ubiquitina do tipo lisina-63 a uma proteína chamada NEMO ou IKKγ, que é uma subunidade não catalítica de um complexo enzimático trimérico denominado complexo quinase IκB (IKK). Esse complexo contém duas outras subunidades chamadas IKKα e IKKβ, ambas com potencial de serem serina/treonina quinases cataliticamente ativas. A ubiquitinação de NEMO permite que IKKβ seja ativada por uma quinase *upstream*.
- A IKKβ ativa fosforila a proteína inibidora ligada ao NF-κB, IκBα, em dois resíduos de serina específicos e assim marca essa proteína para a ubiquitinação da lisina-48.
- A IκBα poliubiquitinada é marcada para degradação no proteassomo e o heterodímero NF-κB canônico é então liberado para entrar no núcleo (Fig. 7.26).

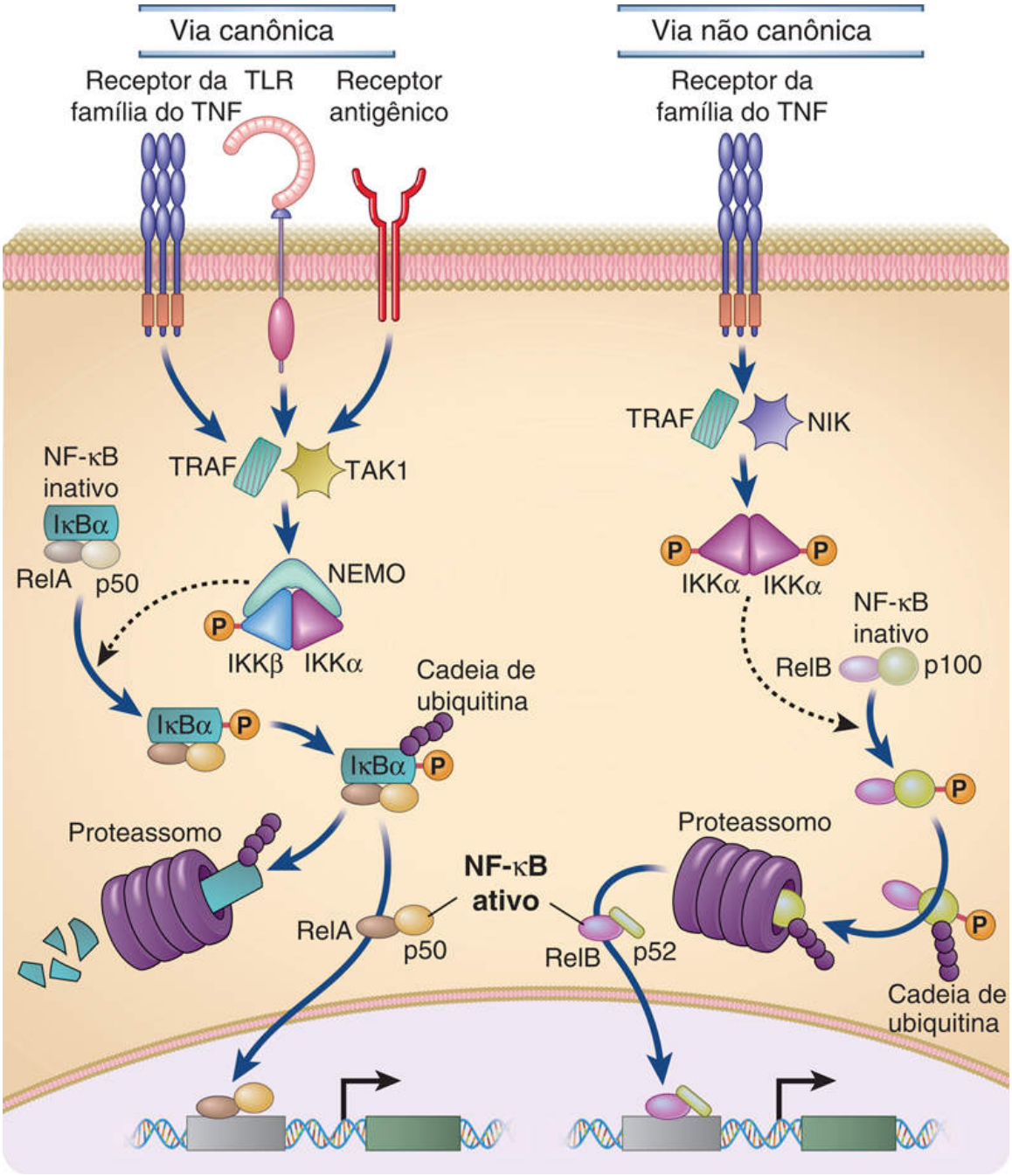


FIGURA 7.26 Vias canônica e não canônica do NF-κB.
A via canônica é apresentada à esquerda. Receptores da família do TNF, TLRs e receptores antigênicos ativam ou induzem um ligase E3 que pode realizar a poliubiquitinação de NEMO/IKKγ, um componente do complexo IκB quinase (IKK), que formam cadeias de ubiquitinas ligadas do tipo lisina-63. Isso conduz à fosforilação e ativação de IKKβ por uma quinase *upstream*. O IKKβ fosforila o inibidor de NF-κB (IκBα) e o direciona para a poliubiquitinação da lisina-48 e degradação proteossomal. A degradação de IκBα leva a entrada do NF-κB ativo para o núcleo. Os receptores antigênicos

ativam PKCs específicas, que por sua vez ativam o complexo CARMA1/Bcl-10/MALT1 (não mostrado) para ativar IKK. TRAFs são ligases E3 ativadas *downstream* dos receptores da família do TNF e TLRs. A via não canônica é apresentada à direita. Nessa via, ativada de maneira proeminente *downstream* do receptor de Linfotoxina β e do receptor de BAFF, TRAFs são ativados *downstream* desses receptores, também de uma forma dependente da ubiquitinação da lisina-63 (*não mostrado*). Os TRAFs ativados contribuem para a ativação da quinase NIK, a qual fosforila e ativa um complexo contendo IKKα. O IKKα ativado por sua vez fosforila p100 que está ligado a RelB, marcando-a para ubiquitinação e degradação parcial, produzindo p52 ou NF-κB2. Os heterodímeros de p52/RelB migram então para o núcleo.

Discutimos anteriormente como a sinalização do TCR e do BCR contribui para a ativação da PKC-θ e PKC-β, respectivamente. Essas PKCs podem fosforilar uma proteína chamada CARMA1 que forma um complexo com duas proteínas chamadas Bcl-10 e MALT1. O complexo CARMA1/MALT1/Bcl-10 pode contribuir para a ativação de uma ubiquitina ligase E3 do tipo lisina-63 chamada TRAF6. A TRAF6 ativa pode ativar TAK1 e também adicionar uma cadeia de ubiquitina lisina-63 a NEMO, facilitando assim a ativação de IKKβ. TLRs, IL-17R e IL-1R também ativam TRAF6 para iniciar a ativação de IKK. Muitos membros da família do receptor de TNF, incluindo o receptor do TNF e CD40, podem ativar a sinalização canônica do NF-κB através da ativação de outras proteínas TRAF, tais como TRAF2, TRAF3 e TRAF5.

Uma via de sinalização do NF-κB separada, chamada **via não canônica**, processa uma proteína precursora chamada p100 em p52, permitindo assim que heterodímeros de NF-κB2/p52 e seu parceiro RelB entrem no núcleo. Em células não ativadas, o precursor p100 também está ligado a RelB, e o complexo p100/RelB é incapaz de entrar no núcleo até que p100 seja convertido em p52. Essa via é ativada *downstream* a alguns receptores de sinalização da família TNFR, mais notavelmente o receptor de linfotoxina-β (LTβR), que direciona a organogênese linfoide, e o receptor BAFF (BAFFR), que facilita a sobrevivência de células B. Receptores como LTβR e BAFF, que induzem a via não canônica do NF-κB, também usam TRAFs para ativar uma quinase chamada NIK que, por sua vez, ativa um complexo do tipo IKK contendo homodímeros IKKα. Isso leva à fosforilação de p100, marcando-a para ubiquitinação e degradação no citosol, e leva à geração de complexos NF-κB p52/RelB que podem migrar para o núcleo (Fig. 7.26).

Resumo

- Os receptores de sinalização, tipicamente localizados na superfície celular, geralmente iniciam a sinalização no citosol, seguida por uma fase nuclear durante a qual a expressão gênica é alterada.
- Muitos tipos diferentes de receptores de sinalização contribuem para a imunidade inata e adaptativa, com a categoria mais proeminente sendo aquela que pertence a uma família de receptores em que tirosina quinases não receptoras fosforilam motivos ITAM contendo tirosina nas caudas citoplasmáticas de proteínas do complexo receptor.
- Alguns dos outros tipos de receptores de interesse na Imunologia incluem a família de tirosina quinase receptoras, receptores nucleares, receptores serpentina heterotriméricos acoplados à proteína G e receptores da família Notch.
- Os receptores antigênicos em células T e B, bem como os receptores Fc de Ig, são membros da família de receptores imunes.
- Os receptores antigênicos podem produzir sinalizações amplamente variadas, dependendo da afinidade e da valência do antígeno que pode recrutar diferentes números de ITAMs.
- Os correceptores, tais como o CD4 ou CD8 em células T e CD21 (CR2) em células B, melhoram a sinalização dos receptores antigênicos. Os correceptores ligam-se ao mesmo complexo antigênico que está sendo reconhecido pelo receptor de antígenos.
- A sinalização de receptores antigênicos pode ser atenuada por receptores inibidores.
- O complexo TCR é formado por cadeias α e β do TCR, que contribuem para o reconhecimento do antígeno, e pelas cadeias de sinalização contendo ITAM CD3 γ, δ e ε, bem como o homodímero ζ. Cada uma das cadeias CD3 contêm um ITAM, enquanto cada cadeia ζ contém três ITAMs.
- A ligação do TCR resulta na fosforilação das tirosinas dos ITAMs de CD3 e ζ por quinases da família Src e o recrutamento de ZAP-70 para os fosfo-ITAMs, sendo que cada domínio SH2 de ZAP-70 se liga a uma tirosina fosforilzada do ITAM.
- A ZAP-70 ativada fosforila resíduos de tirosina nos adaptadores, e as enzimas *downstream* são recrutadas para o sinalossomo.

- As enzimas que medeiam a troca de GTP por GDP em proteínas G pequenas, como Ras e Rac, ajudam a iniciar as vias de MAP quinase. Essas vias levam à indução ou ativação de fatores de transcrição, tais como Jun e Fos, componentes do fator de transcrição AP-1.
- A ativação da PLCγ1 leva à liberação de IP3 à partir de PIP2, e IP3 induz a liberação de cálcio dos estoques intracelulares. A depleção de cálcio desses estoques intracelulares facilita a abertura de CRAC, um canal operado por armazenamento na superfície da célula, que mantém os níveis de cálcio intracelular aumentados. O cálcio se liga à calmodulina e ativa as proteínas *downstream*, incluindo a calcineurina, uma fosfatase que facilita a entrada do fator de transcrição NFAT no núcleo.
- O DAG é gerado na membrana quando a PLCγ1 libera IP3 a partir de PIP2. O DAG pode ativar a PKC-θ que, entre outras coisas, pode contribuir para a ativação do NF-κB.
- Uma quinase lipídica chamada PI3-quinase converte o PIP2 em PIP3. O PIP3 pode recrutar e ativar proteínas contendo o domínio PH para a membrana plasmática. O PIP3 ativa a Itk em células T e a Btk em células B; ativa também a PDK1, uma quinase que pode fosforilar outra quinase *downstream* chamada Akt, mediadora da sobrevivência celular.
- Os receptores coestimuladores iniciam a sinalização separadamente dos receptores antigênicos, mas os estímulos da sinalização a partir de receptores antigênicos e de receptores coestimuladores sinergizam no núcleo. O principal receptor coestimulador nas células T é o CD28.
- O BCR é constituído por Igs ligadas à membrana e um heterodímero de Igα e Igβ associado por pontes dissulfeto. Tanto Igα quanto Igβ contêm motivos ITAM nas suas caudas citoplasmáticas. As vias de sinalização ligadas ao BCR são bastante semelhantes às vias de sinalização *downstream* do TCR.
- A atenuação da sinalização do receptor imune nas células B, células T e células NK, dentre outras, é mediada por receptores inibidores que frequentemente possuem motivos inibidores contendo tirosina, ou ITIMs, em suas caudas citoplasmáticas.
- Outro importante mecanismo de atenuação de sinal envolve a ubiquitinação de proteínas de sinalização por ubiquitina ligases E3.

- Os receptores de citocinas podem ser divididos em categorias com base em características estruturais e mecanismos de sinalização.
- Muitos receptores de citocinas usam tirosina quinases não receptoras chamadas JAKs para fosforilar fatores de transcrição chamados STATs.
- Alguns receptores de citocinas, como aqueles das famílias de receptores da IL-1, IL-17 e TNF, ativam a via canônica ou a via não canônica de sinalização do NF-κB.
- A sinalização canônica do NF-κB é ativada *downstream* a muitos receptores, incluindo receptores de citocinas da família do receptor de TNF, membros da família dos TLRs e IL-1R, e receptores antigênicos. A via envolve a ativação de IKKβ no complexo IKK, a fosforilação do inibidor IκBα por IKKβ ativado, a ubiquitinação e degradação proteossômica de IκBα, e o transporte de NF-κB para o núcleo.

Referências Sugeridas

Sinalização pelos Receptores Imunológicos

Cannons JL, Tangye SG, Schwartzberg PL. SLAM family receptors and SAP adaptors in immunity. *Annu Rev Immunol*. 2011;29:665–705.

Wu X, Karin M. Emerging roles of Lys63-linked polyubiquitylation in immune responses. *Immunol Rev*. 2015;266:161–174.

Wucherpfennig KW, Gagnon E, Call MJ, et al. Structural biology of the T-cell receptor: insights into receptor assembly, ligand recognition, and initiation of signaling. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2010;2:a005140.

Yuan JS, Kousis PC, Suliman S, et al. Functions of notch signaling in the immune system: consensus and controversies. *Annu Rev Immunol*. 2010;28:343–365.

Estrutura e Sinalização do Receptor das Células T

Brownlie RJ, Zamoyska R. T cell receptor signalling networks: branched, diversified and bounded. *Nat Rev Immunol*. 2013;13:257–269.

Burkhardt JK, Carrizosa E, Shaffer MH. The actin cytoskeleton in T cell activation. *Annu Rev Immunol*. 2008;26:233–259.

Fooksman DR, Vardhana S, Vasiliver-Shamis G, et al. Functional anatomy of T cell activation and synapse formation. *Annu Rev Immunol*. 2010;28:79–105.

Hogan PG, Lewis RS, Rao A. Molecular basis of calcium signaling in lymphocytes: STIM and ORAI. *Annu Rev Immunol*. 2010;28:491–533.

Kuhns MS, Davis MM, Garcia KC. Deconstructing the form and function of the TCR/CD3 complex. *Immunity*. 2006;24:133–139.

MacIver NJ, Michalek RD, Rathmell JC. Metabolic regulation of T lymphocytes. *Annu Rev Immunol*. 2013;31:259–283.

Man K, Kallies A. Synchronizing transcriptional control of T cell metabolism and function. *Nat Rev Immunol*. 2015;15:574–584.

Okkenhaug K. Signaling by the phosphoinositide 3-kinase family in immune cells. *Annu Rev Immunol*. 2013;31:675–704.

Pearce EL, Poffenberger MC, Chang CH, Jones RG. Fueling immunity: insights into metabolism and lymphocyte function. *Science*. 2013;342:1242454.

Rudolph MG, Stanfield RL, Wilson IA. How TCRs bind MHCs, peptides, and coreceptors. *Annu Rev Immunol*. 2006;24:419–466.

Smith-Garvin JE, Koretzky GA, Jordan MS. T cell activation. *Annu Rev Immunol*. 2009;27:591–619.

van der Merwe PA, Dushek O. Mechanisms for T cell receptor triggering. *Nat Rev Immunol*. 2011;11:47–55.

Estrutura e Sinalização do Receptor das Células B

Harwood NE, Batista FD. Early events in B cell activation. *Annu Rev Immunol*. 2010;28:185–210.

Kurosaki T, Shinohara H, Baba Y. B cell signaling and fate decision. *Annu Rev Immunol*. 2010;28:21–55.

Atenuação dos Sinais nos Linfócitos

Acuto O, Di Bartolo V, Michel F. Tailoring T-cell receptor signals by proximal negative feedback mechanisms. *Nat Rev Immunol*. 2008;8:699–712.

O'Shea JJ, Murray PJ. Cytokine signaling modules in inflammatory responses. *Immunity*. 2008;28:477–487.

Pao LI, Badour K, Siminovitch KA, Neel BG. Nonreceptor protein-tyrosine phosphatases in immune cell signaling. *Annu Rev Immunol*. 2007;25:473–523.

Smith KG, Clatworthy MR. FcgammaRIIB in autoimmunity and infection: evolutionary and therapeutic implications. *Nat Rev Immunol*. 2010;10:328–343.

Sun SC. Deubiquitylation and regulation of the immune response. *Nat Rev Immunol*. 2008;8:501–511.

Receptores de Citocinas

Brenner D, Blaser H, Mak TW. Regulation of tumour necrosis factor signalling: live or let die. *Nat Rev Immunol*. 2015;15:362–374.

O'Shea JJ, Murray PJ. Cytokine signaling modules in inflammatory responses. *Immunity*. 2008;28:477–487.

CAPÍTULO 8

Desenvolvimento dos Linfócitos e Rearranjo Genético do Receptor Antigênico

VISÃO GERAL DO DESENVOLVIMENTO DOS LINFÓCITOS
- Comprometimento com as Linhagens de Células B e T e Proliferação de Progenitores
- Papel das Alterações Epigenéticas e MicroRNAs no Desenvolvimento dos Linfócitos
- Rearranjo e Expressão Gênica do Receptor Antigênico
- Processos de Seleção que Moldam os Repertórios de Linfócitos B e T

REARRANJO DE GENES DO RECEPTOR ANTIGÊNICO EM LINFÓCITOS B E T
- Organização na Linhagem Germinativa dos Genes de Imunoglobulina e Receptor de Célula T
- Recombinação V(D)J
- Geração da Diversidade em Células B e T

DESENVOLVIMENTO DO LINFÓCITO B
- Estágios do Desenvolvimento do Linfócito B
- Seleção do Repertório da Célula B Madura

DESENVOLVIMENTO DO LINFÓCITO T
- Papel do Timo na Maturação da Célula T
- Estágios da Maturação da Célula T
- Processos de Seleção na Maturação de Células T
- αβ MHC-Restritas
- Linfócitos T γδ

RESUMO

Os linfócitos expressam receptores antigênicos altamente diversificados que são capazes de reconhecer uma ampla variedade de substâncias estranhas. Essa diversidade é gerada durante o desenvolvimento de linfócitos B e T maduros a partir de células precursoras que não expressam receptores antigênicos e não podem reconhecer nem responder aos antígenos. O processo pelo qual os progenitores dos linfócitos no timo e na medula óssea se diferenciam em linfócitos maduros que povoam os tecidos linfoides periféricos é chamado **desenvolvimento do linfócito** ou **maturação do linfócito**. (Os termos *desenvolvimento* e *maturação* são usados de modo intercambiável neste contexto.) A maturação é iniciada por sinais oriundos de receptores de superfície celular que têm dois papéis: promover a proliferação de progenitores e iniciar o rearranjo dos genes do receptor antigênico, requisito necessário para o desenvolvimento de linfócitos B e T com diversas especificidades antigênicas.

Começamos este capítulo considerando o processo de comprometimento com as linhagens de linfócitos B e T e discutindo alguns princípios e mecanismos comuns do desenvolvimento de células B e T. A isso se segue uma descrição dos processos que são exclusivos do desenvolvimento das células B e, então, daqueles exclusivos das células T.

Visão Geral do Desenvolvimento dos Linfócitos

A maturação dos linfócitos B e T envolve uma série de eventos que ocorrem nos órgãos linfoides geradores (Fig. 8.1). Esses eventos incluem os seguintes:

- ***Comprometimento*** das células progenitoras com as linhagens linfoides B ou T.
- ***Proliferação*** das células progenitoras e das células comprometidas imaturas em estágios iniciais específicos do desenvolvimento, criando um amplo *pool* de células capazes de gerar linfócitos úteis.
- O ***rearranjo sequencial e ordenado de genes do receptor antigênico*** e a expressão de proteínas desse receptor. (Os termos *rearranjo* e *recombinação* são usados de modo intercambiável.)
- ***Eventos de seleção*** que preservam células que produziram proteínas funcionais do receptor antigênico e eliminam células potencialmente perigosas que reconhecem fortemente autoantígenos. Esses pontos de controle durante o desenvolvimento garantem que os linfócitos que expressam receptores funcionais com especificidades úteis amadureçam e entrem no sistema imune periférico.
- ***Diferenciação de células B e T em subpopulações funcional e fenotipicamente distintas.*** As células B se desenvolvem em células foliculares, da zona marginal e B-1. As células T se desenvolvem em linfócitos T $\alpha\beta$ $CD4^+$ e $CD8^+$, células T *natural killer* (NKT), células MAIT e células T $\gamma\delta$. As propriedades e funções dessas diferentes populações de linfócitos são discutidas em capítulos posteriores.

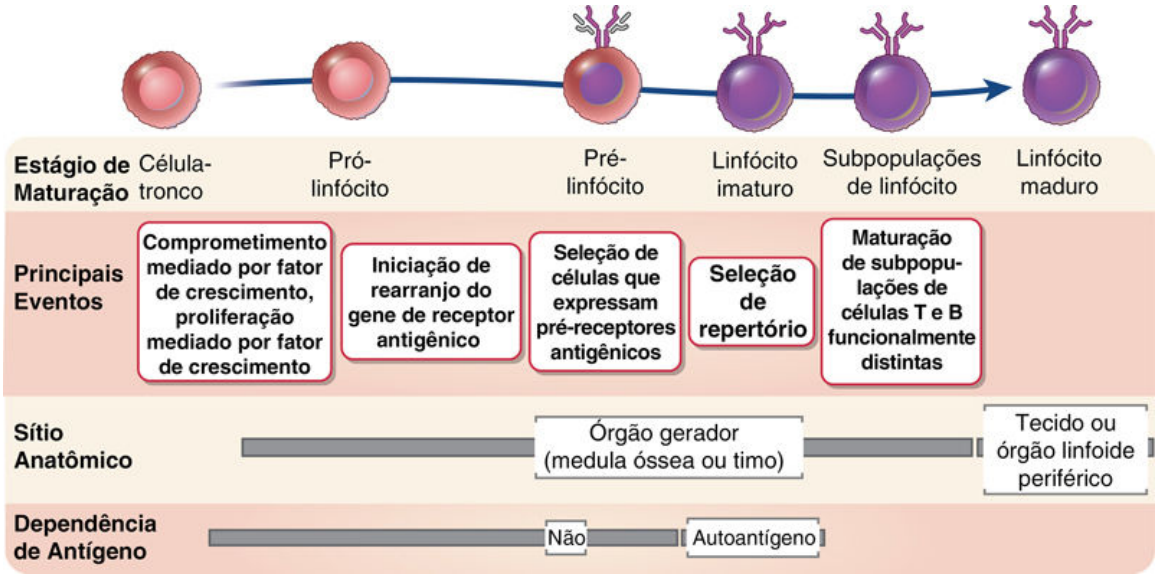


FIGURA 8.1 Estágios de maturação do linfócito.
O desenvolvimento de ambos os linfócitos, B e T, envolve a sequência de estágios de amadurecimento mostrada. A maturação da célula B é ilustrada, porém os estágios básicos da maturação da célula T são similares.

Comprometimento com as Linhagens de Células B e T e Proliferação de Progenitores

As células-tronco multipotentes encontradas no fígado fetal e na medula óssea, conhecidas como células-tronco hematopoiéticas (CTHs), originam todas as linhagens de células sanguíneas, inclusive os linfócitos (Capítulo 2). As CTHs amadurecem em progenitores linfoides comuns que originam células B, células T e células linfoides inatas (Fig. 8.2). A maturação das células B a partir de progenitores comprometidos com essa linhagem se dá principalmente na medula óssea e antes do nascimento, ainda no fígado fetal. As células-tronco derivadas do fígado fetal originam principalmente um tipo de célula B chamado célula B-1, enquanto as CTHs derivadas da medula óssea originam a maioria das células B circulantes (células B foliculares), bem como uma subpopulação de células B chamadas células B da zona marginal. Os precursores dos linfócitos T emergem do fígado fetal antes do nascimento e da medula óssea em fases mais tardias da vida, e circulam para o timo, onde completam sua maturação. A maioria das células T, que expressam receptores de célula T (TCRs, do inglês, *T cell receptors*) $\alpha\beta$, desenvolve-se a partir de CTHs derivadas da medula óssea, enquanto a maioria das células T que

expressam TCRs γδ surgem de CTHs do fígado fetal. Em geral, as células B e T geradas no início da vida fetal têm receptores antigênicos menos diversificados. Apesar de suas diferentes localizações anatômicas, os primeiros eventos de maturação de linfócitos B e T são fundamentalmente similares.

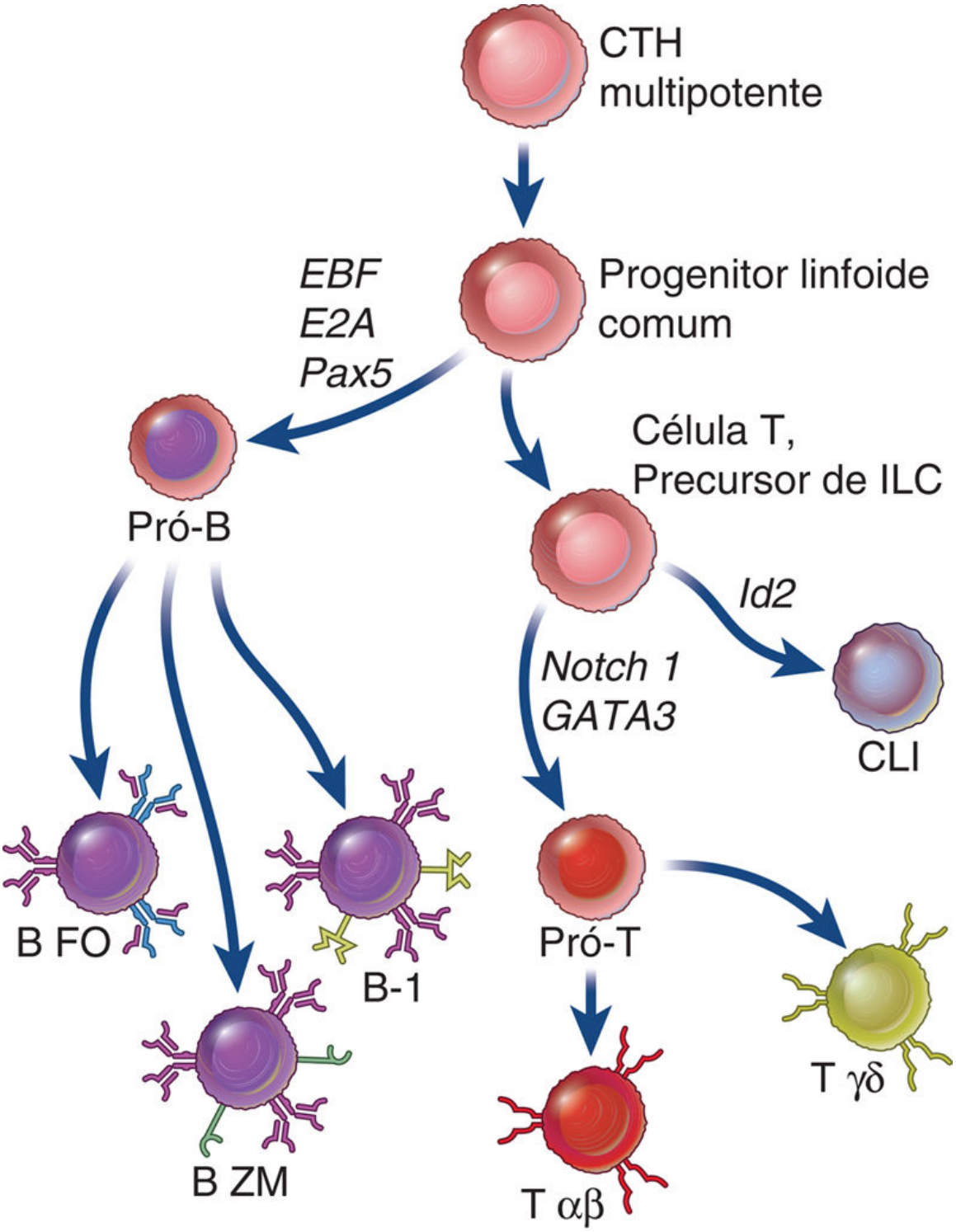


FIGURA 8.2 Células-tronco multipotentes originam linhagens B e T distintas.
As células-tronco hematopoiéticas (CTHs) originam progenitores distintos para vários tipos de células sanguíneas. Uma dessas populações de progenitores *(mostrada aqui)* é chamada progenitor linfoide comum (PLC). Os PLCs originam principalmente células B e

T, mas também podem contribuir para as células NK e algumas células dendríticas *(omitidas aqui)*. As células pró-B eventualmente podem se diferenciar em células B foliculares (B FO), células B da zona marginal (B ZM), e células B-1. As células pró-T podem se comprometer com as linhagens de célula T αβ ou γδ. O comprometimento com linhagens diferentes é dirigido por vários fatores de transcrição, indicados em itálico. *ILC*, células linfoides inatas (do inglês, *innate lymphoid cells*).

O comprometimento de progenitores linfoides comuns com as linhagens de células B ou T depende dos sinais oriundos dos vários receptores de superfície celular que induzem reguladores de transcrição que conduzem o desenvolvimento no sentido das células B ou das células T. Os receptores de superfície celular e fatores de transcrição que contribuem para o comprometimento induzem expressão das proteínas envolvidas nos rearranjos dos genes de receptor antigênico, descritos adiante neste capítulo, e tornam os *loci* particulares de genes do receptor antigênico acessíveis a essas proteínas. No caso das células B em desenvolvimento, o *locus* da cadeia pesada da imunoglobulina (Ig), originalmente na configuração de cromatina inacessível, é aberto de modo a se tornar acessível às proteínas que mediarão o rearranjo e a expressão do gene de Ig. Nas células T $\alpha\beta$ em desenvolvimento, o *locus* gênico do TCR β é o primeiro a se tornar acessível. Além das proteínas envolvidas no processo de rearranjo do gene do receptor antigênico, fatores de transcrição e receptores de citocinas que dirigem a diferenciação adicional de células T e B são expressos neste estágio.

Diferentes conjuntos de fatores de transcrição conduzem o desenvolvimento das linhagens de células B e T a partir de precursores não comprometidos (Fig. 8.2). Os fatores de transcrição Notch-1 e GATA-3 comprometem os linfócitos em desenvolvimento com a linhagem de células T. A família de proteínas Notch consiste em moléculas de superfície celular que são proteoliticamente clivadas ao interagirem com ligantes específicos presentes em células vizinhas (Fig. 7.2). As porções intracelulares clivadas das proteínas Notch migram para o núcleo e modulam a expressão de genes-alvo específicos. Notch-1 é ativada em células progenitoras linfoides e, aliada ao GATA-3, induz a expressão de alguns genes requeridos para o desenvolvimento adicional das células T $\alpha\beta$. Alguns desses genes codificam componentes do pré-receptor de célula T (pré--TCR), bem como as proteínas Rag-1 e Rag-2, requeridas para a recombinação V(D)J, descrita adiante. Os fatores de transcrição EBF, E2A e Pax-5 induzem a expressão de genes requeridos ao desenvolvimento da

célula B. Entre esses genes, estão os genes codificadores das proteínas Rag-1 e Rag-2, componentes do pré-receptor da célula B, e das proteínas que contribuem para a sinalização via pré-receptor da célula B e receptor da célula B. O papel dessas proteínas no desenvolvimento das células T e B será considerado posteriormente, neste mesmo capítulo.

Durante o desenvolvimento das células B e T, as células progenitoras comprometidas proliferam primeiramente em resposta a citocinas e, posteriormente, em resposta aos sinais gerados por um pré-receptor antigênico que selecionam as células que rearrajaram com sucesso o primeiro conjunto de genes do receptor antigênico. A proliferação assegura que um *pool* amplo o suficiente de células progenitoras venha a ser gerado para eventualmente produzir um repertório altamente diversificado de linfócitos antígeno-específicos maduros. Em roedores, a citocina interleucina-7 (IL-7) dirige a proliferação dos progenitores iniciais de células T e B. Nos seres humanos, a IL-7 é requerida para a proliferação dos progenitores de célula T e não dos progenitores da linhagem B. A IL-7 é produzida por células estromais na medula óssea e também por células epiteliais e outras células no timo. Camundongos com mutações dirigidas em genes que codificam a IL-7 ou o receptor de IL-7 apresentam maturação defeituosa de precursores de linfócitos para além dos estágios iniciais e, como resultado, deficiências profundas nas células T e B maduras. Mutações no gene da cadeia γ comum, uma proteína compartilhada pelos receptores de várias citocinas, incluindo IL-2, IL-7 e IL-15, entre outras, origina um distúrbio de imunodeficiência em seres humanos conhecido como **doença da imunodeficiência combinada grave ligada ao X (X-SCID, do inglês *X-linked severe combined immunodeficiency*)** (Capítulo 21). Essa doença é caracterizada por um bloqueio no desenvolvimento de células T e de células NK, todavia com manutenção do desenvolvimento normal de células B, refletindo o requerimento de IL-7 para o desenvolvimento das células T em seres humanos e de IL-15 para as células NK.

A maior expansão proliferativa de precursores de linfócitos ocorre após o rearranjo bem-sucedido dos genes codificadores de uma das duas cadeias do receptor antigênico da célula T ou B, produzindo um pré-receptor antigênico (descrito adiante). Os sinais gerados pelos pré-receptores antigênicos são responsáveis pela proliferação significativamente maior de linfócitos em desenvolvimento (que tiveram êxito no rearranjo do gene da cadeia pesada de Ig ou no gene da cadeia β do TCR, dependendo do caso), do que a promovida pelas citocinas, como a IL-7.

Papel das Alterações Epigenéticas e MicroRNAs no Desenvolvimento dos Linfócitos

Muitos eventos nucleares no desenvolvimento dos linfócitos são regulados por mecanismos epigenéticos. A epigenética se refere ao controle da expressão gênica e dos fenótipos por mecanismos que não são alterações no código genético em si. Exclusivamente no desenvolvimento dos linfócitos, os mecanismos epigenéticos também controlam os eventos de rearranjo gênico do receptor antigênico. O DNA existe em cromossomos firmemente ligados a proteínas histona e não histona, formando aquilo que é chamado cromatina. Na cromatina, o DNA está enrolado em torno de um núcleo proteico de octâmeros de histona, formando estruturas chamadas nucleossomos, os quais podem estar bem separados uns dos outros ou densamente concentrados. A cromatina, portanto, pode existir na forma de estruturas empacotadas de maneira relativamente frouxa, chamadas eucromatina, em que os genes podem ser acessados pelos fatores de transcrição e outras proteínas e, assim, serem transcritos, ou na forma de heterocromatina firmemente empacotada, na qual os genes permanecem em um estado silenciado. A organização estrutural de porções dos cromossomos varia em diferentes células, tornando certos genes disponíveis para a ligação a fatores de transcrição, enquanto esses mesmos genes podem estar indisponíveis para os fatores de transcrição em outras células. Os mecanismos epigenéticos que regulam a acessibilidade e atividade dos genes incluem a metilação do DNA em alguns resíduos de citosina, que geralmente silencia os genes; as modificações pós-traducionais das caudas de histona dos nucleossomos (p. ex.: acetilação, metilação e ubiquitinação) que podem tornar os genes ativos ou inativos dependendo da histona modificada e da natureza da modificação; o remodelamento ativo da cromatina por máquinas proteicas chamadas complexos remodeladores, que também intensificam ou suprimem a expressão gênica; e o silenciamento da expressão gênica por RNAs não codificadores.

Alguns componentes essenciais do desenvolvimento dos linfócitos são regulados por mecanismos epigenéticos.

- Modificações na histona em *loci* gênicos do receptor antigênico são requeridas para o recrutamento de proteínas que medeiam a recombinação genética para formar genes de receptor antigênico funcionais. Esse processo é discutido adiante, ainda neste capítulo.

- O comprometimento das células T em desenvolvimento com a linhagem CD4 ou com a linhagem CD8 depende de mecanismos epigenéticos que silenciam a expressão do gene de CD4 em células T $CD8^+$. O silenciamento envolve modificações na cromatina que colocam o gene de CD4 em um estado de heterocromatina inacessível.
- No Capítulo 7, discutimos os microRNAs (miRNAs) no contexto da ativação da célula T. Os miRNAs também contribuem de forma significativa para a modulação da expressão de genes e proteínas durante o desenvolvimento. Como mencionado no Capítulo 7, Dicer é uma enzima-chave na geração de miRNA. A detecção de Dicer na linhagem T resulta em perda preferencial de células T reguladoras e consequente desenvolvimento de um fenótipo autoimune similar àquele observado na ausência de FoxP3 (discutido nos Capítulo 15 e 21). A perda de Dicer na linhagem B resulta em bloqueio na transição da célula pró-B para célula pré-B (discutida em maiores detalhes na próxima seção), primariamente pela permissividade à apoptose das células pré-B. Estudos de ablação genética revelaram que muitos miRNAs específicos estão envolvidos no desenvolvimento dos linfócitos.

Rearranjo e Expressão Gênica do Receptor Antigênico

O rearranjo de genes do receptor antigênico é um evento essencial no desenvolvimento do linfócito, e esse processo é responsável pela geração de um repertório imune adaptativo diversificado. Conforme discutido nos capítulos anteriores, cada clone de linfócitos B e T produz um receptor antigênico dotado de uma estrutura exclusiva de ligação ao antígeno. Em qualquer indivíduo, pode haver 10^7 a 10^9 clones diferentes de linfócitos B e T, cada um com um receptor exclusivo. A habilidade de cada indivíduo gerar estes repertórios amplos e diversificados de linfócitos tem evoluído de modo que um número bastante modesto de genes pode originar um vasto número de moléculas de Ig e TCR distintas, cada uma das quais capaz de se ligar a um antígeno diferente. Genes funcionais do receptor antigênico são produzidos em células B imaturas na medula óssea, e o mesmo ocorre com as células T imaturas no timo, por um processo de rearranjo gênico. Nesse processo, os segmentos dos genes do receptor antigênico são aleatoriamente recombinados e variações na sequência nucleotídica são introduzidas em uma das junções, resultando na

produção de um amplo número de éxons codificadores da região variável. Os eventos de rearranjo do DNA que levam à produção de receptores antigênicos não dependem nem são influenciados pela presença de antígenos. Em outras palavras, como propôs a hipótese de seleção clonal, receptores antigênicos diversificados são gerados e expressos antes do encontro com os antígenos (Fig. 1.7). Discutiremos adiante, neste mesmo capítulo, os detalhes moleculares do rearranjo genético do receptor antigênico.

Processos de Seleção que Moldam os Repertórios de Linfócitos B e T

O processo de desenvolvimento dos linfócitos contém numerosas etapas, chamadas pontos de controle, nas quais as células em desenvolvimento são testadas e somente continuam amadurecendo se uma etapa anterior do processo for concluída com sucesso. Um desses pontos de controle é com base na produção bem-sucedida de uma das cadeias polipeptídicas da proteína do receptor antigênico de duas cadeias, sendo que um segundo ponto de controle requer a montagem de um receptor completo. O requerimento de passagem por esses pontos de controle garante que apenas os linfócitos produtores de receptores antigênicos completos e, portanto, provavelmente funcionais, sejam selecionados para a maturação. Processos adicionais de seleção operam depois que o receptor antigênico é expresso e servem para eliminar linfócitos autorreativos potencialmente perigosos, bem como para comprometer as células em desenvolvimento com linhagens particulares. A seguir, resumiremos os princípios gerais desses eventos de seleção.

Os pré-receptores antigênicos e receptores antigênicos emitem sinais aos linfócitos em desenvolvimento que são requeridos para que essas células sobrevivam, proliferem e continuem amadurecendo (Fig. 8.3). Os pré-receptores antigênicos, chamados pré-receptores de célula B (pré-BCRs) encontrados nas células B, e os pré-TCRs nas células T, são estruturas sinalizadoras expressas durante o desenvolvimento das células B e T que contêm apenas uma das duas cadeias polipeptídicas presentes em um receptor antigênico maduro. As células da linhagem de linfócitos B que rearranjam com sucesso seus genes de cadeia pesada de Ig expressam a proteína de cadeia pesada μ e montam um pré-receptor antigênico conhecido como pré-BCR. De modo análogo, as células T em desenvolvimento que fazem um rearranjo produtivo do gene da cadeia β do TCR sintetizam a proteína da cadeia β do TCR e montam um pré-

receptor antigênico conhecido como pré-TCR. Apenas cerca de 1 em cada 3 rearranjos gênicos de receptor antigênico está em quadro de leitura e, portanto, é capaz de gerar uma proteína completa apropriada. Se as células fazem rearranjos fora do quadro de leitura nos *loci* de cadeias μ de Ig ou β do TCR, os pré-receptores antigênicos não são expressos, as células então não recebem os sinais de sobrevivência necessários e sofrem morte celular programada. Os complexos pré-BCR e pré-TCR montados fornecem sinais para a sobrevivência, para a proliferação, para o fenômeno de exclusão alélica (discutido posteriormente) e para o desenvolvimento adicional das primeiras células das linhagens B e T. Assim, a expressão do pré-receptor antigênico é o primeiro ponto de controle durante o desenvolvimento do linfócito.

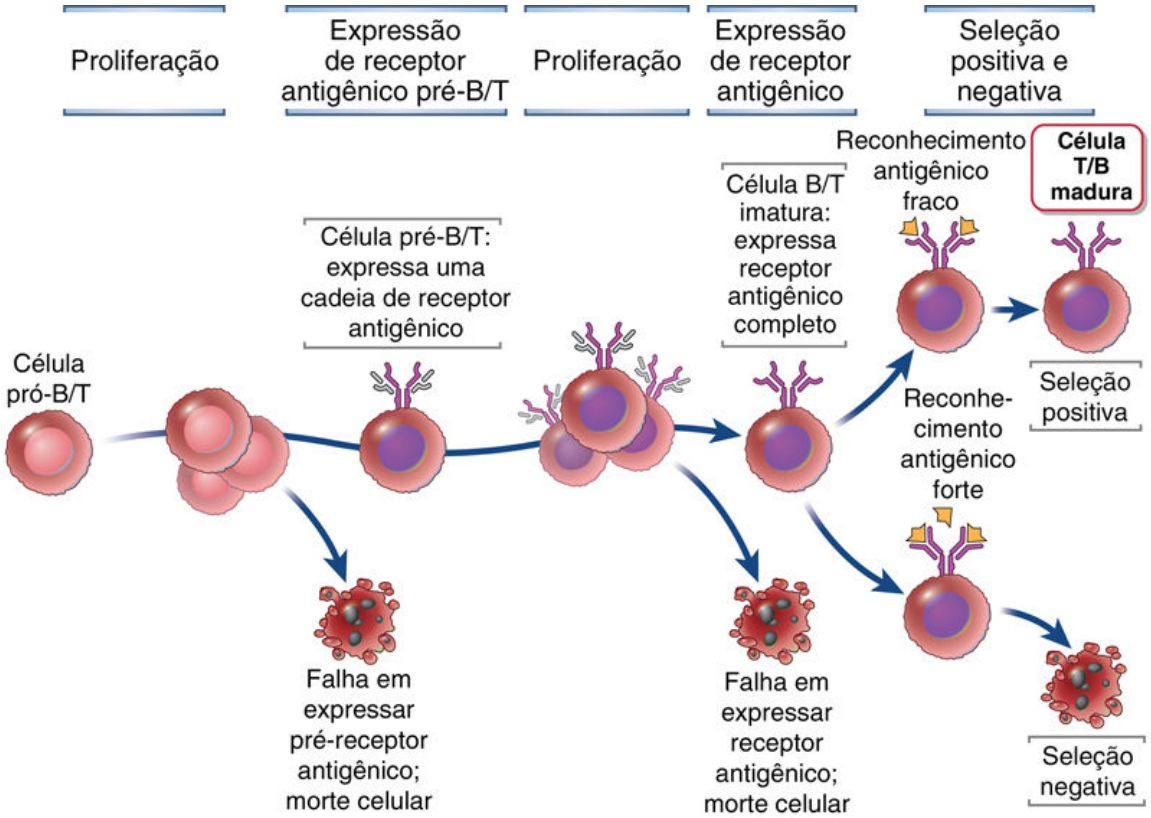


FIGURA 8.3 Pontos de controle na maturação do linfócito. Durante o desenvolvimento, os linfócitos que expressam os receptores requeridos para a proliferação continuada e maturação são selecionados para sobreviverem, enquanto as células que não expressam receptores funcionais morrem por apoptose. A seleção positiva e a seleção negativa preservam adicionalmente as células com especificidades úteis. A presença de múltiplos pontos de controle garante que apenas as células com receptores úteis completem sua maturação.

Na próxima etapa de maturação, as células B e T em desenvolvimento expressam receptores antigênicos completos, e as células são selecionadas para sobreviverem com base naquilo que estes receptores reconhecem. Os linfócitos que navegaram com sucesso pelo ponto de controle do pré-receptor antigênico seguem para o rearranjo e expressão de genes codificadores da segunda cadeia do BCR ou do TCR, e expressam o receptor antigênico completo enquanto ainda estão imaturos. Neste estágio imaturo, as células que expressam receptores antigênicos úteis podem ser preservadas, enquanto as células potencialmente perigosas que reconhecem fortemente estruturas próprias podem ser eliminadas ou induzidas a alterarem seus receptores de antígeno (Fig. 8.3).

Um processo chamado **seleção positiva** facilita a sobrevivência de linfócitos potencialmente úteis, e esse evento de desenvolvimento está ligado ao comprometimento com a linhagem, o processo pelo qual as subpopulações de linfócitos são geradas. Na linhagem da célula T, a seleção positiva garante a maturação de células T cujos receptores reconhecem moléculas do complexo principal de histocompatibilidade (MHC, do inglês, *major histocompatibility complex*) próprias. Do mesmo modo, a expressão do correceptor em uma célula T (CD8 ou CD4) é combinada ao reconhecimento do tipo apropriado de molécula de MHC (MHC de classe I ou MHC de classe II, respectivamente). As células T maduras cujos precursores foram positivamente selecionados por moléculas de MHC próprias no timo são capazes de reconhecer antígenos peptídicos estranhos exibidos pelas mesmas moléculas de MHC próprias em células apresentadoras de antígeno presentes nos tecidos periféricos. Na linhagem da célula B, a seleção positiva preserva células que expressam receptor e está acoplada à geração de diferentes subpopulações de célula B.

A **seleção negativa** é o processo que elimina ou altera os linfócitos em desenvolvimento cujos receptores antigênicos se ligam fortemente a autoantígenos presentes nos órgãos linfoides geradores. Ambas as células em desenvolvimento, B e T, são suscetíveis à seleção negativa por um curto período depois de os receptores antigênicos serem expressos pela primeira vez. As células T em desenvolvimento com alta afinidade por autoantígenos são eliminadas por apoptose, em um fenômeno conhecido como **deleção clonal.** As células B imaturas fortemente autorreativas podem ser induzidas a realizarem mais rearranjos do gene de Ig e, assim, evadirem da autorreatividade. Esse fenômeno é chamado **edição do receptor**. Se a edição falhar, as células B autorreativas morrem, o que também é chamado deleção clonal. A seleção negativa de linfócitos imaturos é um mecanismo importante para manter a tolerância a muitos autoantígenos; isso também é chamado **tolerância central**, porque se desenvolve nos órgãos linfoides centrais (geradores) (Capítulo 15).

Com essa introdução, passaremos a uma discussão mais detalhada da maturação do linfócito, começando com o evento-chave no processo — o rearranjo e expressão dos genes do receptor antigênico.

Rearranjo de Genes do Receptor Antigênico em Linfócitos B e T

Os genes codificadores de diversos receptores antigênicos de linfócitos B e T são gerados pelo rearranjo, em linfócitos individuais, de diferentes segmentos gênicos da região variável (V) com segmentos gênicos de diversidade (D) e juncionais (J). Um novo éxon rearranjado para cada gene de receptor antigênico é gerado pela fusão de um segmento gênico V *upstream* específico a um segmento *downstream* distante no mesmo cromossomo. Esse processo especializado de rearranjo gênico sítio-específico é chamado **recombinação V(D)J.** A elucidação dos mecanismos de rearranjo gênico do receptor antigênico e, portanto, da base subjacente para a geração da diversidade imunológica, representa um marco histórico da imunologia moderna.

As primeiras suposições sobre como milhões de receptores antigênicos diferentes poderiam ser gerados a partir de uma quantidade limitada de DNA codificador no genoma vieram de análises das sequências de aminoácidos de moléculas de Ig. Essas análises mostraram que as cadeias polipeptídicas de muitos anticorpos diferentes do mesmo isotipo compartilhavam sequências idênticas em suas extremidades C-terminal (correspondendo aos domínios constantes das cadeias pesada e leve), mas diferiam consideravelmente quanto às sequências em suas extremidades N-terminal, que correspondem aos domínios variáveis das imunoglobulinas (Capítulo 5). Contrariamente a um dos princípios centrais da genética molecular, enunciado como a hipótese de "um gene/um polipeptídeo", os imunologistas postularam em 1965 que cada cadeia de anticorpo na verdade é codificada por pelo menos dois genes, um variável e outro constante, e que ambos estão fisicamente combinados ao nível do DNA ou do RNA mensageiro (mRNA) para eventualmente originar proteínas de Ig funcionais. A comprovação formal dessa hipótese demorou mais de uma década para acontecer, quando Susumu Tonegawa demonstrou que a estrutura dos genes de Ig nas células de um tumor produtor de anticorpo, chamado mieloma ou plasmacitoma, difere daquela encontrada nos tecidos embrionários ou em tecidos não linfoides não comprometidos com a produção de Ig. Essas diferenças surgem porque os segmentos de DNA codificadores das cadeias pesada e leve de Ig estão separados nos *loci* herdados e são aproximados e unidos somente nas células B em desenvolvimento, mas não em outros tecidos nem outros

tipos celulares. Foi constatada a ocorrência de rearranjos similares durante o desenvolvimento da célula T nos *loci* codificadores das cadeias polipeptídicas de TCRs. O rearranjo gênico do receptor antigênico é melhor compreendido quando se descreve primeiro a organização não rearranjada, ou germinativa, dos genes de Ig e TCR, para então descrever seus rearranjos durante a maturação do linfócito.

Organização na Linhagem Germinativa dos Genes de Imunoglobulina e Receptor de Célula T

Os genes de Ig e TCR da linhagem germinativa são constituídos por múltiplos segmentos de DNA aleatoriamente combinados nos linfócitos em desenvolvimento. Descreveremos primeiro os *loci* de Ig e, em seguida, os *loci* de TCR.

Organização dos Loci de Genes de Imunoglobulina

Três *loci* separados codificam, respectivamente, todas as cadeias pesadas, a cadeia leve κ e a cadeia leve λ de Ig. Cada *locus* está em um cromossomo diferente. A organização dos genes de Ig humanos é ilustrada na Fig. 8.4 e a relação entre os segmentos gênicos após o rearranjo e os domínios das proteínas de cadeia pesada e leve de Ig é mostrada na Figura. 8.5A. Os genes de Ig estão organizados essencialmente do mesmo modo em todos os mamíferos, embora suas localizações cromossômicas e o número e ordem de diferentes segmentos gênicos em cada *locus* possa variar.

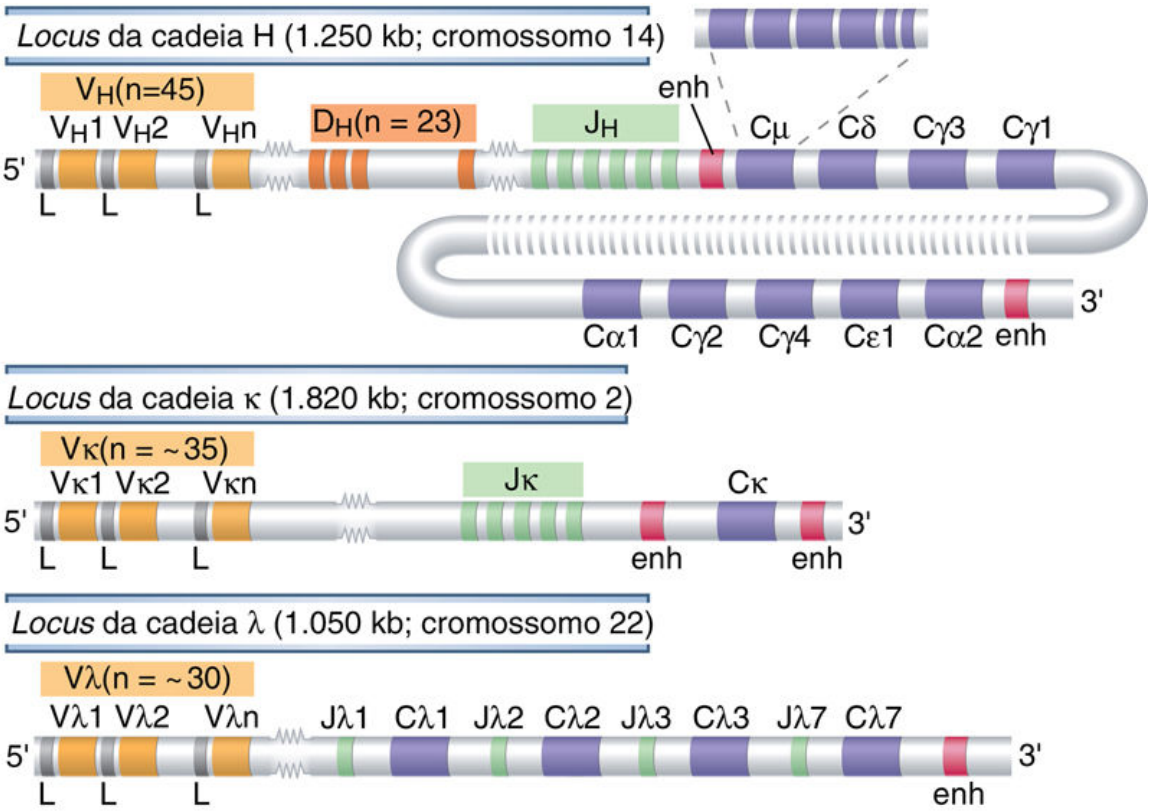


FIGURA 8.4 Organização de linhagem germinativa dos *loci* de Ig humana.

São mostrados os *loci* de cadeia pesada humana, cadeia leve κ e cadeia leve λ. Apenas segmentos gênicos funcionais são mostrados; pseudogenes foram omitidos por uma questão de simplificação. Éxons e íntrons não foram representados em escala. Cada gene C_H é mostrado como um quadrado único, porém composto por vários éxons, como ilustrado para Cμ. Os segmentos gênicos são indicados da seguinte forma: *L*, líder (frequentemente chamado sequência sinalizadora); *V*, variável; *D*, diversidade; *J*, juncional; *C*, constante; *enh*, intensificador. Nesta e nas figuras subsequentes, as estruturas tubulares representam segmentos cromossômicos de fita dupla, com as extremidades 5’ e 3’ referindo-se às fitas codificadoras.

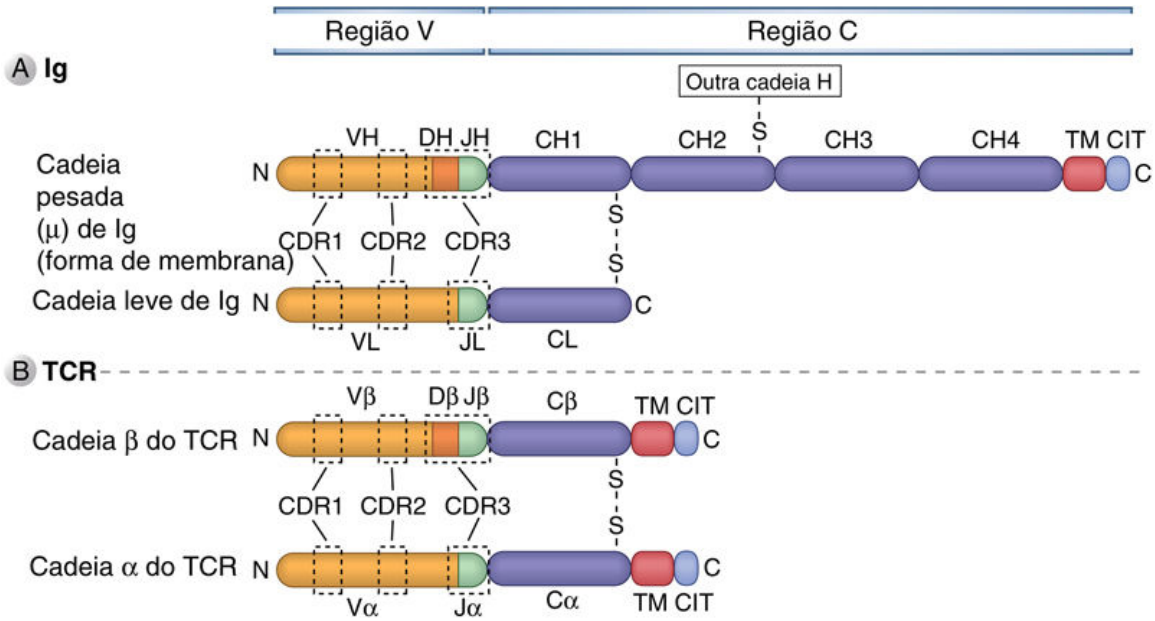


FIGURA 8.5 Domínios de proteínas Ig e TCR.
Os domínios das cadeias pesada e leve de Ig são mostrados em **A,** e os domínios das cadeias α e β do TCR são mostrados em **B.** As relações entre os segmentos gênicos de Ig e TCR e a estrutura do domínio das cadeias polipeptídicas do receptor antigênico são indicadas. As regiões V e C de cada polipeptídeo são codificadas por diferentes segmentos gênicos. As localizações das ligações dissulfeto (S-S) intra e intercadeia são aproximadas. As áreas nos quadrados pontilhados são as regiões hipervariáveis (determinantes de complementariedade). Na cadeia μ de Ig e nas cadeias α e β do TCR, os domínios transmembrana (TM) e citoplasmático (CIT) são codificados por éxons separados. N e C se referem aos amino- e carboxiterminais.

Na extremidade 5′ de cada *locus* de Ig, há um grupamento de genes V (variáveis), cada um dos quais com cerca de 300 pares de bases de comprimento. Os números de genes V funcionais variam de modo considerável entre os diferentes *loci* de Ig e entre espécies diferentes. Exemplificando, em seres humanos, existem cerca de 35 genes V funcionais no *locus* da cadeia leve κ, cerca de 30 no *locus* λ e cerca de 45 no *locus* de cadeia pesada. Em camundongos, por outro lado, há cerca de 30 genes V funcionais no *locus* κ, apenas dois no *locus* de cadeia leve λ, e cerca de 250 no *locus* de cadeia pesada. Em ambas as espécies, os segmentos gênicos V para cada *locus* estão espaçados ao longo de amplas extensões de DNA de até 2.000 quilobases de comprimento. Localizado na extremidade 5′ de cada segmento V, há um éxon-líder codificador de 20-30 resíduos N-terminais da proteína traduzida. Esses resíduos são

moderadamente hidrofóbicos e constituem o peptídeo-líder (ou peptídeo-sinal). As sequências sinalizadoras são encontradas em quase todas as proteínas secretadas e transmembrana recém-sintetizadas e estão envolvidas na orientação dos polipeptídeos nascentes que estão sendo traduzidos em ribossomos ligados à membrana e lançados no lúmen do retículo endoplasmático. Nesse momento, as sequências sinalizadoras são rapidamente clivadas e estão ausentes nas proteínas maduras. Em posição *upstream* a cada éxon-líder, há um gene V promotor em que a transcrição pode ser iniciada, mas conforme discutido posteriormente, isso ocorre de forma mais eficiente após o rearranjo.

A distâncias variáveis na extremidade 3′ dos genes V, existem vários segmentos J (juncionais) medindo tipicamente 30-50 pares de bases de comprimento que estão separados por sequências não codificadoras. Entre os segmentos V e J no *locus* IgH, existem segmentos adicionais conhecidos como segmentos D (diversidade). Os segmentos D não são encontrados nos *loci* de cadeia leve de Ig. Assim como os genes V, os números de genes D e J variam em diferentes *loci* de Ig e em espécies diferentes.

Os genes da região constante (C) estão localizados na extremidade 3′ dos segmentos J. Cada *locus* de Ig tem um arranjo e um número de genes de região C distintos. Em seres humanos, o *locus* da cadeia leve κ tem um único gene C (Cκ), enquanto o *locus* da cadeia leve λ tem quatro genes C funcionais (Cλ). O *locus* da cadeia pesada de Ig tem nove genes C (C_H) arranjados em *tandem*, os quais codificam as regiões C dos nove isotipos e subtipos diferentes de Ig (Capítulo 5). Os genes Cκ e Cλ são compostos, cada um, por um único éxon codificador de todo o domínio C das cadeias leves. Em contraste, cada gene C_H é composto por cinco ou seis éxons. Cada três ou quatro éxons (todos similares em tamanho a um segmento de gene V) codificam um domínio C_H da cadeia pesada de Ig, e dois éxons menores codificam as extremidades carboxiterminais da forma de membrana de cada cadeia pesada de Ig, incluindo os domínios transmembrana e citoplasmático das cadeias pesadas (Fig. 8.5A).

Os segmentos gênicos V, J e D (quando presentes) são aproximados para criar a sequência codificadora dos domínios variáveis das cadeias de anticorpo. Em uma proteína de cadeia leve de Ig (κ ou λ), o domínio V é codificado pelos segmentos gênicos V e J rearranjados; na proteína da cadeia pesada de Ig, o domínio V é codificado pelos segmentos gênicos V, D e J recombinados (Fig. 8.5A). No caso dos domínios V da cadeia pesada de Ig, os resíduos juncionais não germinativos entre os segmentos V e D rearranjados e os segmentos D e J, bem como as sequências de linhagem germinativa dos próprios segmentos D e J, constituem a terceira região

hipervariável, também conhecida como região determinante de complementariedade 3 (CDR3, do inglês *complementarity determining region 3*) (Capítulo 5). As sequências juncionais entre os segmentos V e J rearranjados, bem como o próprio segmento J constituem a terceira região hipervariável das cadeias leves de Ig. CDR1 e CDR2 são codificadas apenas nos segmentos de genes V.

Uma proteína completa de cadeia leve ou pesada de Ig contém um domínio V codificado por um éxon VJ ou VDJ rearranjado, fundido a um ou mais domínios C. A aposição dos domínios V e C de Ig não ocorre ao nível do rearranjo do DNA, e sim pelo *splicing* de RNA do transcrito do gene de Ig rearranjado.

As sequências não codificadoras nos *loci* de Ig exercem papéis importantes na recombinação e expressão gênica. Como veremos adiante, as sequências que determinam a recombinação de diferentes segmentos gênicos são encontradas adjacentes a cada segmento codificador nos genes de Ig. Também presentes estão os promotores do gene V e outros elementos reguladores de ação *cis*, tais como o *locus* de regiões de controle, intensificadores e silenciadores, os quais regulam a expressão gênica ao nível da transcrição.

Organização dos *Loci* dos Genes do Receptor da Célula T

Cada *locus* de TCR na linhagem germinativa está arranjado de modo bastante similar aos *loci* de Ig descritos anteriormente, com um grupamento 5′ de vários segmentos gênicos V seguidos de segmentos D (apenas nos *loci* β e δ), seguidos por um grupamento de segmentos J, todos *upstream* aos genes da região C (Fig. 8.6). No *locus* β humano, existem cerca de 50 segmentos gênicos V, 2 segmentos gênicos D e 12 segmentos gênicos J, enquanto no *locus* α há 45 segmentos gênicos V e 50 segmentos gênicos J. Os *loci* γ e δ em geral têm menos segmentos gênicos do que os *loci* α e β, com um total de apenas 7 genes V. Em posição *upstream* a cada gene V do TCR, há um éxon codificador de um peptídeo-líder, e *upstream* a cada éxon-líder há um promotor para cada gene V. Nas proteínas β e δ do TCR, o domínio V é codificado pelos segmentos gênicos V, D e J, enquanto nas proteínas α e γ do TCR, o domínio V é codificado pelos segmentos gênicos V e J. Em todos esses domínios V, CDR1 e CDR2 são codificados por sequências da linhagem germinativa junto a segmentos de genes V. O CDR3 em cada cadeia de TCR β e de TCR δ é codificado por um segmento D e outro J, bem como por sequências juncionais não germinativas que são

adicionadas entre os segmentos V, D e J. O CDR3 em cada cadeia α e γ é codificado por sequências juncionais não germinativas entre os segmentos V e J, e pelo próprio segmento J em si. Existem dois genes C em cada um dos *loci* de TCR β e TCR γ humanos, contudo apenas um é usado em qualquer clone de célula T, e cada um dos dois tem seu próprio grupamento 5′ de segmentos J associados. Há somente um único gene C em cada *loci* α e β. Cada gene da região C do TCR é composto por quatro éxons codificadores do domínio Ig da região C extracelular, uma região de dobradiça curta, o segmento transmembrana e a cauda citoplasmática.

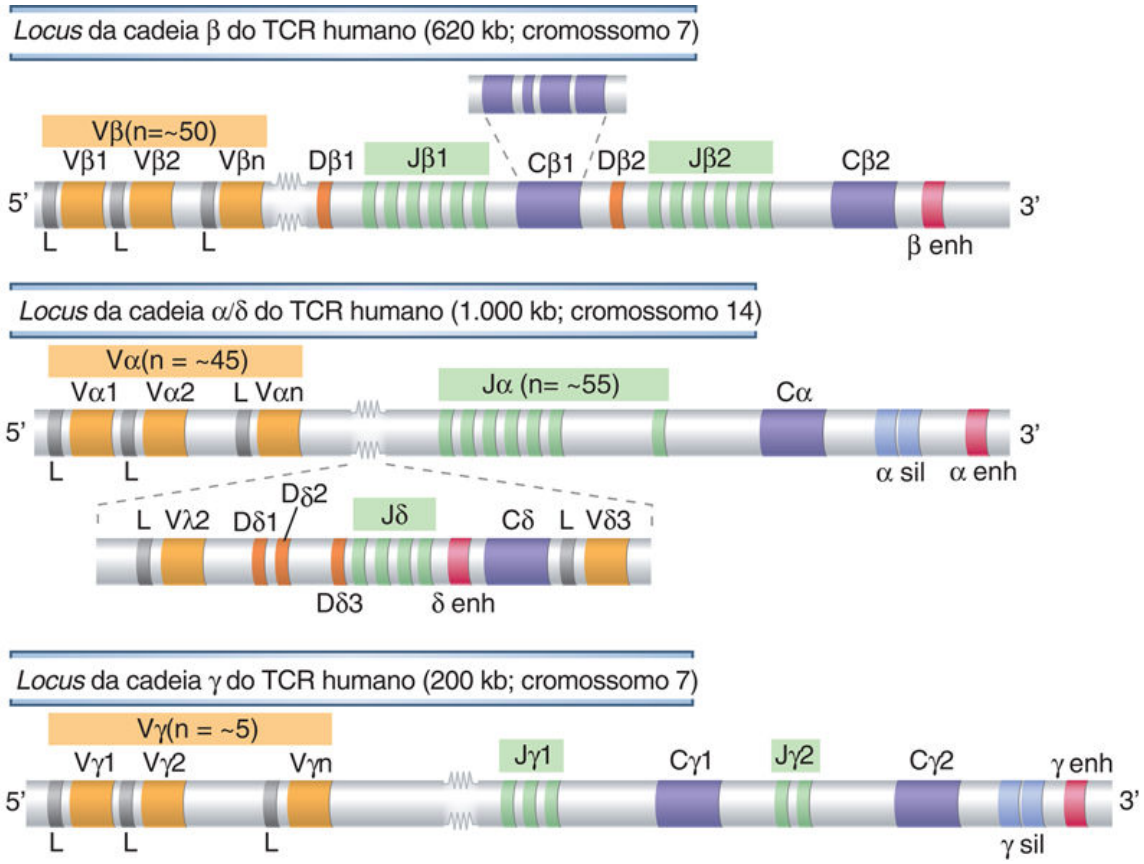


FIGURA 8.6 Organização de linhagem germinativa dos *loci* de TCR humano.
Os *loci* de cadeias β, α, γ e δ do TCR humano são mostrados, como indicado. Os éxons e íntrons não são representados em escala, e os pseudogenes não funcionais foram omitidos. Cada gene C é mostrado como um quadrado único, porém constituído por vários éxons, conforme ilustrado para Cβ1. Os segmentos gênicos são indicados da seguinte forma: *L*, líder (frequentemente chamado sequência sinalizadora); *V*, variável; *D*, diversidade; *J*, juncional; *C*, constante; *enh*, intensificador; *sil*, silenciador (sequências reguladoras da transcrição do gene *TCR*).

A relação entre os segmentos gênicos do TCR e as porções correspondentes de proteínas do TCR codificadas por estes segmentos é mostrada na Figura. 8.5B.

Recombinação V(D)J

A organização da linhagem germinativa dos *loci* de Ig e TCR descrita na seção anterior existe em todos os tipos celulares do corpo. Os genes da linhagem germinativa não podem ser transcritos em mRNAs codificadores de proteínas funcionais dos receptores antigênicos. Os genes funcionais de

receptores antigênicos são criados apenas em linfócitos B e T em desenvolvimento, depois que um rearranjo do DNA aproxima e estabelece continuidade entre os segmentos dos genes V, (D) e J, aleatoriamente escolhidos.

O processo de recombinação V(D)J em qualquer locus de Ig ou TCR envolve o rearranjo de um segmento gênico V, um segmento gênico D (apenas em loci de cadeia pesada de Ig ou cadeia β do TCR), e um segmento J em cada linfócito para formar um único éxon V(D)J que irá codificar a região variável de uma proteína de receptor antigênico (Fig. 8.7). Nos *loci* da cadeia leve de Ig e do TCR α e γ, nos quais não há segmentos D, um único evento de rearranjo une um segmento gênico V aleatoriamente selecionado a um segmento J igualmente selecionado de modo aleatório. Os *loci* H de Ig e β e δ de TCR contêm segmentos D, e nestes *loci* dois eventos de rearranjo sequenciais são necessários — primeiro, uma junção de D com J e, em seguida, a junção de um segmento V ao segmento DJ fundido. Cada evento de rearranjo envolve algumas etapas. Primeiramente, a cromatina deve ser aberta em regiões específicas do cromossomo, para tornar os segmentos dos genes do receptor antigênico acessíveis às enzimas mediadoras da recombinação. Em seguida, dois segmentos gênicos selecionados devem ser aproximados entre si ao longo de uma distância cromossômica considerável. Quebras na fita dupla são então introduzidas nas terminações codificadoras destes dois segmentos; nucleotídeos são adicionados ou removidos nas extremidades clivadas e, por fim, as extremidades processadas são ligadas para produzir genes de receptores antigênicos diversificados que podem ser eficientemente transcritos. As regiões C repousam *downstream* ao éxon V(D)J rearranjado, separadas pelo íntron J-C da linhagem germinativa. Esse gene rearranjado é transcrito para formar um transcrito de RNA primário (nuclear). O subsequente *splicing* de RNA aproxima o éxon-líder, o éxon V(D)J e os éxons de região C, formando um mRNA que pode ser traduzido para produzir uma das cadeias do receptor antigênico. O uso de diferentes combinações de segmentos de genes V, D e J, bem como a adição e remoção de nucleotídeos nas junções contribuem para a tremenda diversidade dos receptores antigênicos, conforme discutiremos mais detalhadamente adiante. Ainda, como esses processos não são idênticos em cada linfócito B em desenvolvimento, cada célula e sua progênie clonal produz um receptor antigênico distinto (Fig. 8.7).

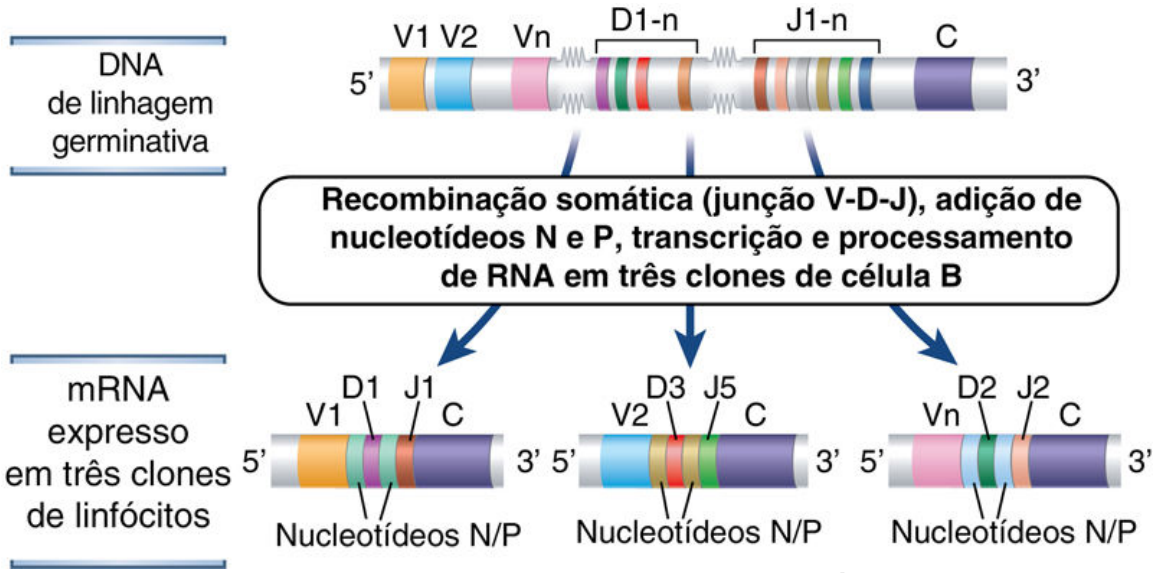


FIGURA 8.7 Diversidade de genes do receptor antigênico.
A partir do mesmo DNA de linhagem germinativa, é possível gerar sequências de DNA recombinadas e mRNAs que diferem quanto às junções V-D-J. A figura mostra três milhões de possíveis mRNAs de receptor antigênico distintos produzidos a partir do mesmo DNA de linhagem germinativa empregando diferentes segmentos gênicos e a adição de nucleotídeos às junções.

Sinais de Reconhecimento que Dirigem a Recombinação V(D)J

Proteínas linfócito-específicas que medeiam a recombinação V(D)J reconhecem sequências de DNA chamadas sequências sinal de recombinação (RSSs, do inglês, recombination signal sequences) localizadas a 3′ de cada segmento gênico V, a 5′ de cada segmento J e flanqueando ambos os lados de cada segmento D (Fig. 8.8A). As RSSs consistem em trechos altamente conservados de 7 nucleotídeos, chamados heptâmeros, em geral CACAGTC, adjacentes à sequência codificadora, seguidos por um espaçador contendo 12 ou 23 nucleotídeos não conservados, seguidos por um trecho rico em AT de 9 nucleotídeos, chamado nonâmero. Os espaçadores de 12 e 23 nucleotídeos correspondem, grosso modo, a uma ou duas voltas de uma hélice de DNA, respectivamente, e provavelmente trazem dois heptâmeros distintos para posições que são simultaneamente acessíveis às enzimas catalizadoras do processo de recombinação.

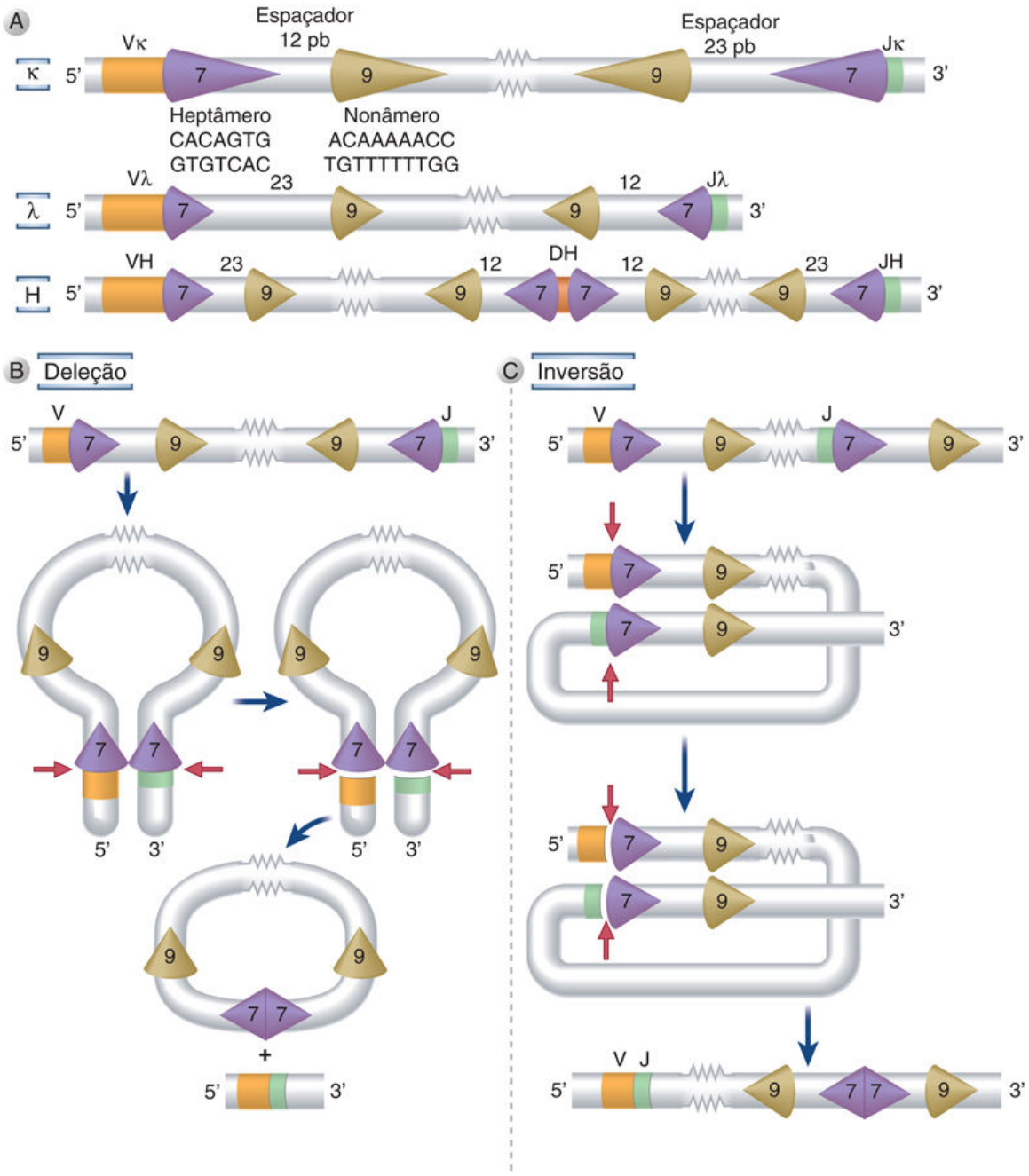


FIGURA 8.8 Recombinação V(D)J.
As sequências de DNA e os mecanismos envolvidos na recombinação nos *loci* gênicos de Ig são ilustrados. As mesmas sequências e mecanismos se aplicam às recombinações nos *loci* de TCR. **A,** Sequências conservadas de heptâmero (7 pb) e nonâmero (9 pb), separadas por espaçadores de 12 ou 23 pb, estão localizadas adjacentes aos segmentos V e J (para os *loci* κ e λ) ou segmentos V, D e J (no *locus* da cadeia H). A recombinase V(D)J reconhece essas sequências sinalizadoras de recombinação e aproxima os éxons. **B** e **C,** A recombinação dos éxons V e J pode

ocorrer por deleção do DNA interveniente e ligação dos segmentos V e J **(B)** ou, se RSS estiver em 3' de um segmento J, por inversão do DNA seguida da ligação dos segmentos gênicos adjacentes **(C)**. As *setas vermelhas* indicam os sítios onde as sequências de linhagem germinativa são clivadas antes de sua ligação a outros segmentos gênicos de Ig ou TCR.

Durante a recombinação V(D)J, são geradas quebras na dupla fita entre o heptâmero da RSS e a sequência codificadora V, D ou J adjacente. Na recombinação V-J da cadeia leve de Ig, por exemplo, quebras serão feitas a 3′ de um segmento V e a 5′ de um segmento J. O DNA de fita dupla interveniente, contendo as extremidades sinal (as extremidades contendo o heptâmero e o restante da RSS), é removido na forma de um círculo, enquanto as extremidades codificadoras V e J são unidas (Fig. 8.8B). Em alguns genes V, especialmente no *locus* κ de Ig, as RSSs estão a 3′ de um Vκ e a 3′ de Jκ, de modo a não se voltarem face a face uma para outra. Nesses casos, o DNA interveniente é invertido e os segmentos V e J são adequadamente alinhados; as RSSs fundidas não são deletadas, e sim retidas no cromossomo (Fig. 8.8C). A maioria dos rearranjos gênicos de Ig e TCR ocorrem por deleção; a inversão é a base de até 50% dos rearranjos no *locus* κ de Ig. Ocorre recombinação entre dois segmentos somente se um dos segmentos for flanqueado por um espaçador de 12 nucleotídeos e o outro for flanqueado por um espaçador de 23 nucleotídeos — isto é chamado de regra 12/23. Um segmento codificador com uma RSS contendo um espaçador abrangendo uma única volta da hélice do DNA, portanto, sempre recombina com um segmento codificador contendo uma RSS com um espaçador que cobre duas voltas da hélice. O tipo de RSSs flanqueadoras (uma ou duas voltas) garante que os segmentos gênicos apropriados irão se recombinar. Por exemplo, no *locus* da cadeia pesada de Ig, as RSSs flanqueadoras dos segmentos V e J têm espaçadores de 23 nucleotídeos (duas voltas) e, portanto, não podem se unir diretamente; a recombinação D-J ocorre primeiro, seguida pela recombinação V-DJ, e isso é possível porque os segmentos D são flanqueados em ambos os lados por espaçadores de 12 nucleotídeos, permitindo a união D-J e, em seguida, V-DJ. As RSSs descritas aqui são exclusivas dos genes de Ig e TCR. Sendo assim, a recombinação V(D)J pode ocorrer em genes do receptor antigênico, mas não ocorre em outros genes.

Uma das consequências da recombinação V(D)J é que o processo traz promotores localizados imediatamente a 5′ de genes V para perto dos intensificadores *downstream* localizados nos íntrons entre os segmentos J e C, e também a 3′ de genes da região C (Fig. 8.9). Esses intensificadores

maximizam a atividade transcricional dos promotores dos genes V e, por isso, são importantes para o alto nível transcricional dos genes V rearranjados em linfócitos. Como os genes de Ig e TCR são sítios de múltiplos eventos de recombinação de DNA em células B e T, e como esses sítios se tornam transcricionalmente ativos após a recombinação, genes de outros *loci* podem ser anormalmente translocados para esses *loci* e, como resultado, serem transcritos de modo aberrante. Em tumores de linfócitos B e T, os oncogenes frequentemente são translocados para *loci* de genes de Ig ou TCR. Essas translocações cromossômicas frequentemente são acompanhadas de transcrição intensificada de oncogenes e constituem um dos fatores promotores de desenvolvimento de tumores linfoides.

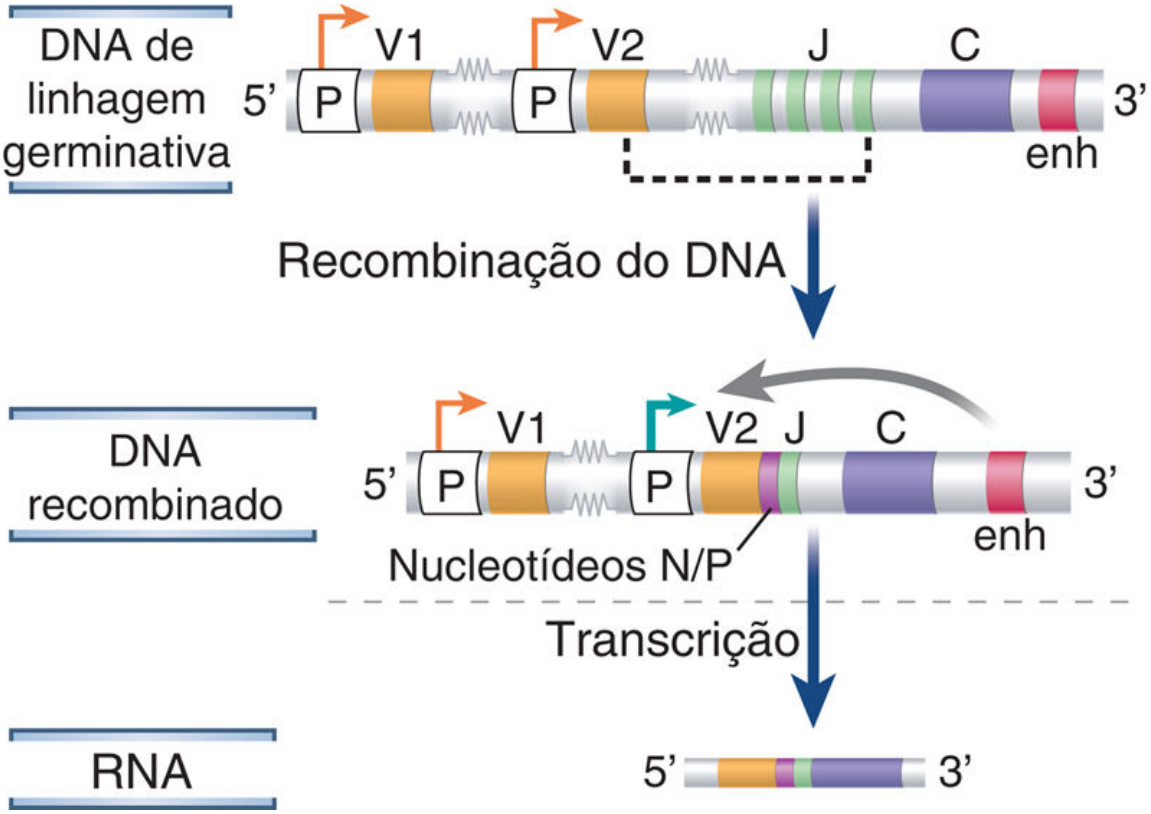


FIGURA 8.9 Regulação transcricional de genes de Ig. A recombinação V-D-J aproxima as sequências promotoras quiescentes (mostradas como P, com a *seta vermelha*) do intensificador (enh). O intensificador promove transcrição do gene V rearranjado (V2, cujo promotor ativo é indicado por uma *seta verde* em negrito). Muitos genes de receptor têm um intensificador no íntron J-C e outro em 3' da região C. Apenas o intensificador em 3' é representado na ilustração.

Mecanismo de Recombinação V(D)J

O rearranjo de genes de Ig e TCR representa um tipo especial de evento de recombinação de DNA não homóloga mediada pelas atividades coordenadas de várias enzima. Algumas dessas enzimas são encontradas apenas em linfócitos em desenvolvimento, enquanto outras são enzimas ubíquas de reparo de quebras na fita dupla de DNA (DSBR, do inglês, *double-stranded break repair*). Apesar de o mecanismo de recombinação V(D)J ser razoavelmente bem conhecido e será descrito aqui, ainda é preciso determinar o modo exato pelo qual *loci* específicos se tornam acessíveis à maquinaria envolvida na recombinação. É provável que a acessibilidade dos *loci* de Ig e TCR às enzimas mediadoras da recombinação seja regulada nas células B e T em desenvolvimento por vários mecanismos, incluindo alterações epigenéticas na estrutura cromatínica e na atividade transcricional basal nos *loci* gênicos.

O processo de recombinação V(D)J pode ser dividido em quatro eventos distintos que fluem sequencialmente de um para o outro (Fig. 8.10):

1. ***Sinapse:*** porções do cromossomo em que o genes do receptor antigênico estão localizados são tornadas acessíveis à maquinaria de recombinação. Existem duas etapas envolvidas no processo de acessibilidade. Primeiramente, apenas RSSs localizadas na eucromatina aberta em um tipo celular específico serão expostas às enzimas de recombinação. Exemplificando, os *loci* IgH, Igκ e Igλ não serão expostos em uma célula T em desenvolvimento. Em segundo lugar, nesse estado de eucromatina aberta, os segmentos gênicos que de fato estão sendo recombinados adquirem marcas de histona adicionais, como a hipermetilação da lisina 4 na histona 3 (H3K4). Essa modificação facilita especificamente o recrutamento de enzimas, conforme discutido adiante. Dois segmentos codificadores selecionados e suas RSSs adjacentes, que adquiriram essas e outras marcas de histona, são aproximados por um evento de laçada (*looping*) e posicionadas para clivagem, processamento e junção subsequente.
2. ***Clivagem:*** quebras na fita dupla são enzimaticamente geradas em junções de sequências codificadoras RSS por ação da maquinaria linfoide-específica. Duas proteínas codificadas por genes linfoide-específicos, chamados **gene ativador de recombinação-1** e **gene ativador de recombinação-2** (*RAG1* e *RAG2*, do inglês, *recombination-activating gene 1* e *recombination-activating gene 2*),

formam um complexo contendo duas moléculas de cada proteína, o qual é requerido para a recombinação V(D)J. O complexo Rag-1/Rag-2 também é conhecido como **recombinase V(D)J**, mas somente Rag-1 tem atividade catalítica. A proteína Rag-2 se liga aos sítios H3K4 hipermetilados na cromatina, associando-se e ativando Rag-1. A proteína Rag-1, similarmente a uma endonuclease de restrição bacteriana, reconhece a sequência de DNA na junção entre um heptâmero e um segmento codificador e o cliva, contudo é enzimaticamente ativa somente quando complexada à proteína Rag-2. Rag-1 e Rag-2 contribuem para manter os segmentos gênicos unidos durante o processo de dobramento cromossômico ou sinapse. Rag-1 então faz uma incisão (em uma fita de DNA) entre a extremidade codificadora e o heptâmero. O OH situado a 3′ é liberado da extremidade codificadora e então ataca uma ligação fosfodiéster na outra fita de DNA, formando um grampo covalente. A extremidade sinalizadora (incluindo o heptâmero e o resto da RSS) não forma um grampo e é gerada como uma terminação de DNA de dupla fita cega que não passa por processamento adicional. Essa quebra na dupla fita resulta em um grampo fechado de um segmento codificador mantido em aposição ao grampo fechado da outra extremidade codificadora, e em duas extremidades sinalizadoras de recombinação cegas sendo aproximadas uma da outra. Rag-1 e Rag-2, à parte de gerarem as quebras na fita dupla, também mantêm as extremidades em grampo e as extremidades cegas unidas antes do início da modificação das extremidades codificadoras e do processo de ligação.

Os genes *RAG* são linfoide-específicos e são expressos apenas em células B e T em desenvolvimento. As proteínas Rag são expressas principalmente nos estágios G0 e G1 do ciclo celular, e estão inativadas nas células em proliferação. Considera-se que a limitação da clivagem e recombinação do DNA aos estágios G0 e G1 minimiza o risco de gerar quebras de DNA inapropriadas durante a replicação do DNA ou durante a mitose. Camundongos sem genes *Rag1* ou *Rag2* funcionais (camundongos *knockout* para *Rag*) falham em desenvolver linfócitos B ou T, enquanto as mutações em RAG-1 ou RAG-2 são causa de doença de imunodeficiência combinada grave (SCID, do inglês, *severe combined immunodeficiency disease*), em que os pacientes não têm linfócitos B e T (Capítulo 21).

3. ***Abertura do grampo e processamento das extremidades:*** após a formação das quebras na dupla fita, os grampos devem ser abertos nas junções codificadoras e nucleotídeos podem ser adicionados ou removidos das extremidades codificadoras para promover uma diversificação ainda maior. **Artemis** é uma endonuclease que abre os grampos nas extremidades codificadoras. Na ausência de Artemis, os grampos não podem ser abertos, impossibilitando a geração de células T e B maduras. Mutações em *ARTEMIS* são causa rara de SCID, similar ao observado em pacientes com mutações em *RAG1* ou *RAG2* (Capítulo 21). Uma enzima linfoide-específica, chamada desoxinucleotidil transferase terminal (TdT, do inglês, *terminal deoxynucleotidyl transferase*), adiciona nucleotídeos a extremidades de DNA quebradas e será discutida posteriormente, no contexto de diversidade juncional.
4. ***Junção:*** as extremidades codificadoras quebradas e as extremidades sinalizadoras (extremidades que terminam em RSSs não codificadoras) são unidas e ligadas por um processo de reparo de quebras na fita dupla encontrado em todas as células, chamado junção de extremidades não homólogas. Alguns fatores ubíquos participam da junção de extremidades não homólogas. Ku70 e Ku80 são proteínas ligantes de extremidades de DNA que se ligam às quebras e recrutam a subunidade catalítica da proteína quinase DNA-dependente (DNA-PK), uma enzima de reparo de DNA de fita dupla. Essa enzima é defeituosa em camundongos portadores da mutação *scid*, e as mutações no gene codificador dessa enzima também causam SCID (Capítulo 21). Assim como os camundongos deficientes em *Rag*, os camundongos *scid* falham em produzir linfócitos maduros. A DNA-PK também fosforila e ativa Artemis que, conforme mencionado antes, está envolvida no processamento das extremidades. A ligação das extremidades quebradas processadas é mediada pela DNA ligase IV e pela XRCC4, sendo que esta última é uma subunidade não catalítica, porém essencial, da ligase.

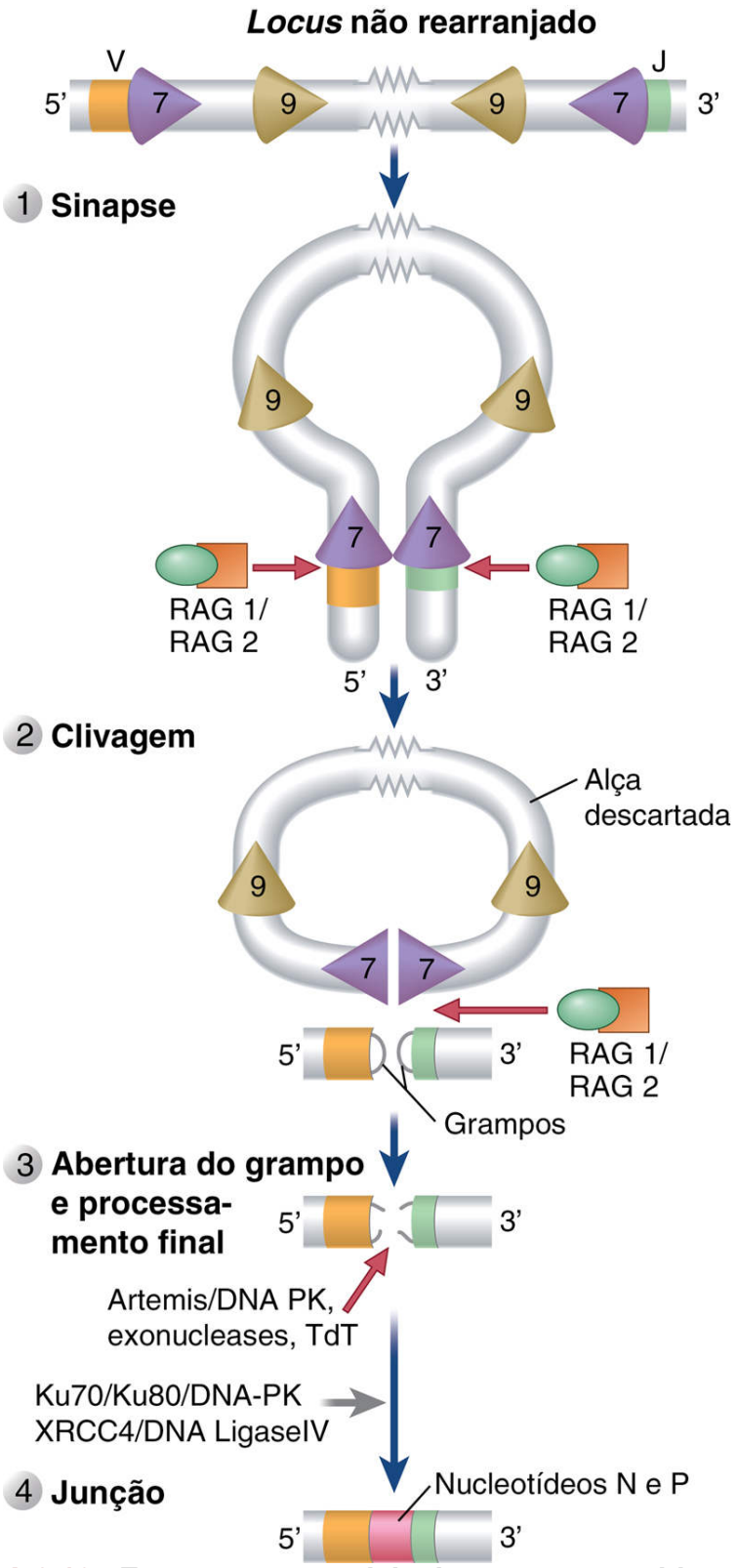


FIGURA 8.10 Eventos sequenciais durante a recombinação V(D)J.
A sinapse e clivagem de DNA no limite do heptâmero/segmento

codificador é mediada por Rag-1 e Rag-2. O grampo na extremidade codificadora é aberto pela endonuclease Artemis, e as extremidades quebradas são reparadas pela maquinaria de junção de extremidades não homólogas presente em todas as células. Note que as duas fitas de DNA são mostradas nos grampos, mas não aparecem nas outras ilustrações esquemáticas de genes.

Geração da Diversidade em Células B e T

A diversidade dos repertórios de células B e T é criada por combinações aleatórias de segmentos gênicos da linhagem germinativa sendo unidos, e pela adição ou deleção de sequências nas junções entre estes segmentos. Vários mecanismos genéticos contribuem para esta diversidade e a relativa importância de cada mecanismo varia entre os diferentes *loci* do receptor antigênico (Tabela 8.1).

- ***Diversidade combinatorial. Diferentes combinações de segmentos gênicos unidos pela recombinação V(D)J produzem receptores antigênicos distintos.*** O número máximo possível de combinações desses segmentos gênicos é o produto dos números de segmentos gênicos V, J e (quando presente) D em cada *locus* do receptor antigênico. Portanto, a quantidade de diversidade combinatorial que pode ser gerada em cada *locus* reflete o número de segmentos gênicos V, J e D de linhagem germinativa naquele *locus*. Após a síntese de proteínas dos receptores antigênicos, a diversidade combinatorial é intensificada ainda mais pela justaposição de duas regiões V distintas, aleatoriamente geradas (i.e., V_H e V_L nas moléculas de Ig, e Vα e Vβ nas moléculas de TCR). Sendo assim, a diversidade combinatorial total é, teoricamente, o produto da diversidade combinatorial de cada das duas cadeias em associação. O grau real de diversidade combinatorial nos repertórios de Ig e TCR expressos em qualquer indivíduo tende a ser consideravelmente menor do que o máximo teórico. Isso ocorre porque nem todas as combinações de segmentos gênicos são igualmente propensas a ocorrerem e nem todos os pareamentos de cadeias pesada e leve de Ig ou de cadeias α e β de TCR podem formar receptores antigênicos funcionais. De modo significativo, como os números de segmentos V, D e J em cada *locus* são limitados (Tabela 8.1), os números máximos possíveis de combinações são da ordem de 1 a 3 milhões. Isso é bem menos do

que a diversidade real dos receptores antigênicos em linfócitos maduros.

- ***Diversidade juncional. A maior contribuição para a diversidade de receptores antigênicos é dada pela remoção ou adição de nucleotídeos nas junções dos segmentos V e D, D e J ou V e J no momento que esses segmentos são unidos.*** Uma forma pela qual isso pode ocorrer é se as endonucleases removerem nucleotídeos das sequências de linhagem germinativa nas extremidades dos segmentos gênicos em recombinação. Além disso, novas sequências de nucleotídeos, ausentes na linhagem germinativa, podem ser adicionadas às junções (Fig. 8.11). Conforme já descrito, os segmentos codificadores (p. ex.: segmentos gênicos V e J) clivados por Rag-1 formam alças de grampo cujas extremidades muitas vezes são clivadas de maneira assimétrica pela enzima Artemis, de modo a resultar em uma fita de DNA mais comprida do que a outra. A fita mais curta tem que ser estendida com a adição de nucleotídeos complementares aos da fita mais longa, antes da ligação dos dois segmentos. A fita mais comprida serve de molde para a adição de pequenas extensões de nucleotídeos chamados nucleotídeos P, e esse processo introduz novas sequências nas junções V-D-J. Outro mecanismo de diversidade juncional é a adição aleatória de até 20 nucleotídeos não codificados pela fita molde, chamados nucleotídeos N (Fig. 8.11). A diversificação da região N é mais comum nas cadeias pesadas de Ig e nas cadeias β e γ do TCR, do que nas cadeias κ e λ de Ig. Essa adição de novos nucleotídeos é mediada pela enzima **terminal desoxinucleotidil transferase TdT**. Em camundongos nos quais a deficiência de TdT foi induzida pelo *knockout* do gene, a diversidade dos repertórios de células B e T é substancialmente menor do que em camundongos normais. A adição de nucleotídeos P e N aos sítios de recombinação pode introduzir *frameshifts* (alterações do quadro de leitura), teoricamente gerando códons de terminação em dois de cada três eventos de junção (se o número total de bases adicionadas não for múltiplo de 3). Esses genes não podem produzir proteínas funcionais, mas tal ineficácia é o preço a pagar pela geração de diversidade.

Tabela 8.1

Contribuições de Diferentes Mecanismos para a Geração de Diversidade nos Genes de Imunoglobulina e Receptor de Célula T

	Imunoglobulina			Receptor de Célula T αβ		Receptor de Célula T γδ	
Mecanismo	**Cadeia Pesada**	**κ**	**λ**	**α**	**β**	**γ**	**δ**
Segmentos variáveis (V)	45	35	30	45	50	5	2
Segmentos de diversidade (D)	23	0	0	0	2	0	3
Segmentos D lidos em todos os três quadros de leitura	Raro	—		—	Frequente	—	Frequente
Diversificação da região N	V-D, D-J	Nenhum		V-J	V-D, D-J	V-J	V-D1, D1-D2, D1-J
Segmentos juncionais (J)	6	5	4	55	12	5	4
Repertório potencial total com diversidade juncional	$\sim 10^{11}$		—	$\sim 10^{16}$		$\sim 10^{18}$	

O número potencial de receptores antigênicos com diversidade juncional é bem maior do que o número que pode ser gerado apenas por combinações de segmentos gênicos V, D e J. Os valores calculados para as magnitudes de repertório de linfócito devem ser considerados aproximações bastante grosseiras. Os cálculos para o repertório de Ig não explicam o fenômeno de hipermutação somática, que será discutida no Capítulo 12.

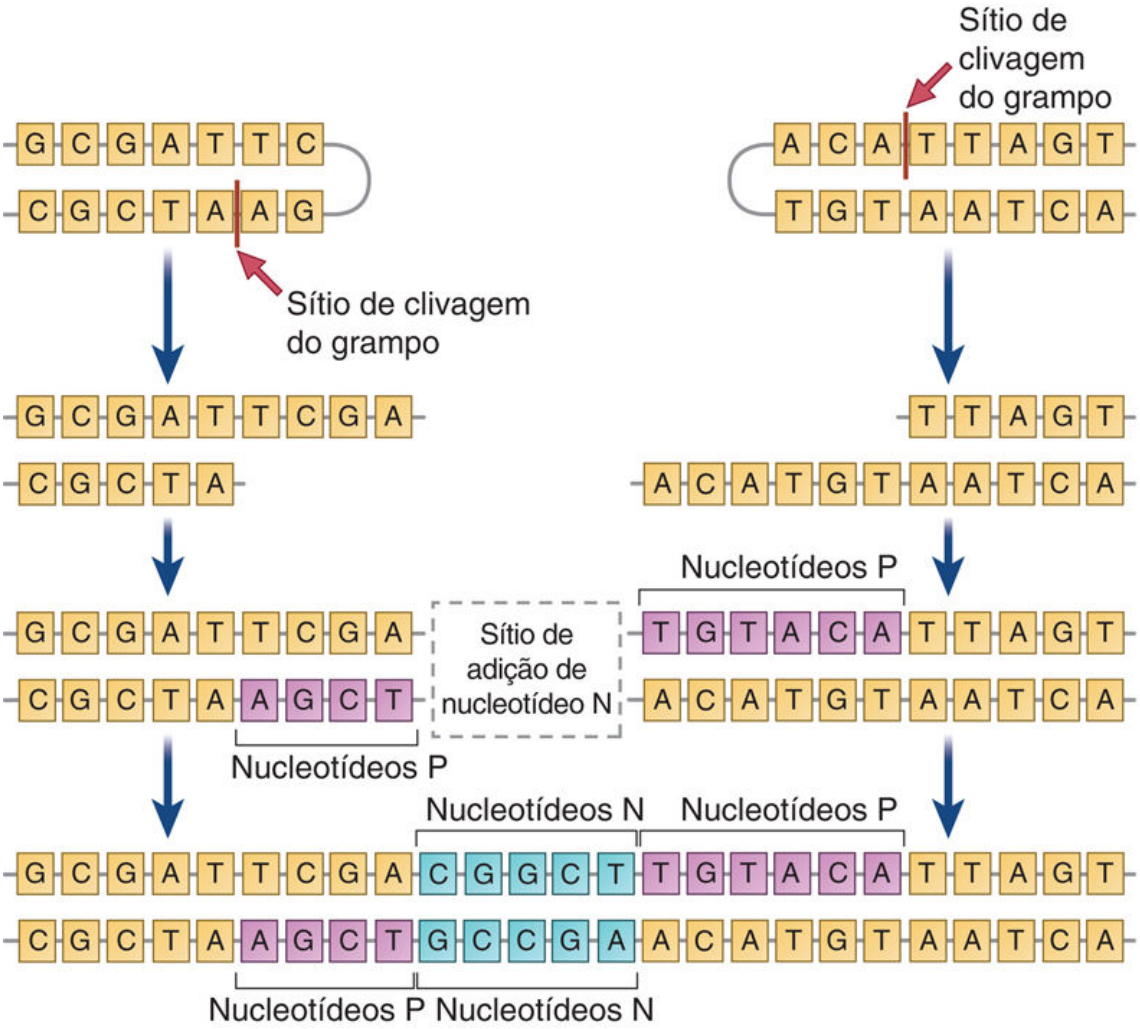


FIGURA 8.11 Diversidade juncional.
Durante a junção de diferentes segmentos gênicos, a adição ou remoção de nucleotídeos pode levar à geração de novas sequências de nucleotídeo e aminoácidos na junção. Nucleotídeos (sequências P) podem ser adicionadas a grampos assimetricamente clivados, seguindo um molde. Outros nucleotídeos (regiões N) podem ser adicionados aos sítios das junções V-D, V-J ou D-J, sem seguir um molde, por ação da enzima TdT. Essas adições geram sequências novas que estão ausentes na linhagem germinativa.

Devido à diversidade juncional, as moléculas de anticorpo e TCR apresentam a maior variabilidade nas junções das regiões V e C, as quais formam a terceira região hipervariável, ou CDR3 (Fig. 8.5). De fato, devido à diversidade juncional, os números de sequências de aminoácidos diferentes presentes nas regiões CDR3 das moléculas de Ig e TCR são muito maiores do que os números que podem ser codificados por

segmentos gênicos da linhagem germinativa. Como esperado, as regiões CDR3 das moléculas de Ig e TCR também são as porções mais importantes destas moléculas para a determinação da especificidade da ligação antigênica (Capítulos 5 e 7).

Apesar de o limite teórico do número de proteínas de Ig e TCR que podem ser produzidas ser enorme (Tabela 8.1), o número real de receptores antigênicos em células B ou T expressos em cada indivíduo em qualquer ponto no tempo é provavelmente da ordem de apenas 10^7. Isso pode refletir o fato de que a maioria dos receptores, que são gerados por recombinação aleatória do DNA, não passa nos processos de seleção necessários à maturação.

Uma aplicação clínica do nosso conhecimento sobre diversidade juncional é a determinação da clonalidade dos tumores linfoides que surgem a partir de células B ou T. Esse exame laboratorial é usado para identificar tumores monoclonais de linfócitos e para distinguir entre tumores e proliferações policlonais. Como todo clone de linfócitos expressa uma única região CDR3 de receptor antigênico, a sequência de nucleotídeos no sítio de recombinação V(D)J atua como marcador específico para cada clone. Portanto, determinando a sequência das regiões juncionais dos genes de Ig ou do TCR em diferentes proliferações de células B ou T, é possível estabelecer se estas lesões surgiram de um único clone (indicando um tumor) ou de maneira independente a partir de clones diferentes (implicando proliferação não neoplásica de linfócitos). O mesmo método pode ser usado para identificar pequenos números de células tumorais no sangue ou nos tecidos.

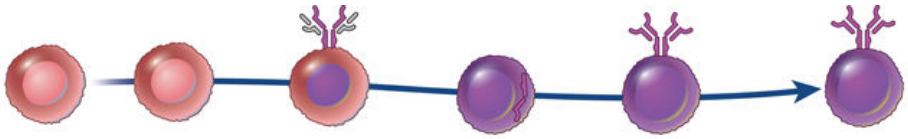
Com esse conhecimento de fundo, seguimos para uma discussão sobre o desenvolvimento dos linfócitos B e, então, sobre a maturação das células T.

Desenvolvimento do Linfócito B

As etapas na maturação dos linfócitos B são o rearranjo e a expressão de genes de Ig em uma ordem precisa; a seleção e proliferação de células B em desenvolvimento no ponto de controle do pré-receptor antigênico; e a seleção do repertório de células B maduras. Antes do nascimento, os linfócitos B se desenvolvem a partir de precursores comprometidos junto ao fígado fetal. Após o nascimento, as células B são geradas na medula óssea. A maioria dos linfócitos B surge de progenitores na medula óssea do adulto que inicialmente não expressam Ig. Esses precursores se desenvolvem em células B imaturas que expressam moléculas de IgM ligadas à membrana e, então, saem da medula óssea para amadurecer ainda mais, principalmente no baço. As células que amadurecem em células B foliculares expressam IgM e IgD na superfície e adquirem a habilidade de recircular e povoar todos os órgãos linfoides periféricos. Essas células B foliculares passam a residir nos folículos linfoides junto aos órgãos linfoides secundários e são capazes de reconhecer e responder a antígenos estranhos. Estima-se que o desenvolvimento de uma célula B madura a partir de um progenitor linfoide demore 2 a 3 dias em seres humanos.

Estágios do Desenvolvimento do Linfócito B

Durante sua maturação, as células da linhagem do linfócito B passam por estágios distinguíveis, cada um dos quais caracterizado por marcadores de superfície celular distintos e um padrão específico de expressão dos genes de Ig (Fig. 8.12). Os principais estágios e os eventos em cada estágio são descritos a seguir.



Estágio de maturação	Célula-tronco	Pró-B	Pré-B grande	Pré-B pequena	B imatura	B madura
Proliferação						
Expressão de RAG						
Expressão de TdT						
RNA, DNA de Ig	DNA de linhagem germinativa	D_H-J_H	Recombinação V_H-DJ, mRNA de μ	Gene de cadeia H recombinado (VDJ), recombinação V-J κ	RNA de μ e κ/λ	*Splicing* alternativo do RNA VDJ-C para formar mRNA de Cμ e Cδ
Expressão de Ig	Nenhuma	Nenhuma	Receptor pré-B	μ citoplasmática	IgM de membrana (μ + κ ou cadeia leve)	IgM e IgD de membrana
Marcadores de superfície	$CD43^+$	$CD43^+$ $CD19^+$ $CD10^+$	$B220^{lo}$ $CD43^+$	$B220^{lo}$ $CD43^+$	IgM^+ $CD43^-$	IgM^{hi} IgD^+
Sítio anatômico	Medula óssea					Periferia
Resposta ao antígeno	Nenhuma	Nenhuma	Nenhuma		Seleção negativa (deleção), edição do receptor	Ativação (proliferação e diferenciação)

FIGURA 8.12 Estágios de maturação da célula B.
Os eventos correspondentes a cada estágio da maturação da célula B, desde uma célula-tronco até um linfócito B maduro, são ilustrados. Vários marcadores de superfície, além daqueles mostrados, foram usados para definir estágios distintos de maturação da célula B.

Estágios Pró-B e Pré-B do Desenvolvimento da Célula B

A primeira célula da medula óssea a se comprometer com a linhagem de célula B é chamada célula pró-B. As células pró-B não produzem Ig, mas podem ser distinguidas de outras células imaturas pela expressão de moléculas de superfície restritas à linhagem B, como CD19 e CD10. As proteínas Rag-1 e Rag-2 são expressas primeiro nesse estágio, e a primeira recombinação dos genes de Ig ocorre no *locus* da cadeia pesada. Essa recombinação aproxima um segmento gênico D de outro J, com deleção do DNA interveniente (Fig. 8.13A). Os segmentos D que estão a 3′ do segmento D rearranjado e os segmentos J que estão a 5′ do segmento J rearranjado são deletados por esta recombinação (p. ex.: D1 e J2 a J6, na

Fig. 8.13A). Após o evento de recombinação D-J, um dos numerosos segmentos gênicos V a 5′ é unido à unidade DJ, originando um éxon VDJ rearranjado. Nesse estágio, todos os segmentos V e D entre os segmentos gênicos V e D rearranjados também são deletados. A recombinação V-para-DJ no *locus* da cadeia H de Ig somente ocorre em precursores de linfócito B comprometidos e é um evento decisivo na expressão de Ig, porque somente o gene V rearranjado é subsequentemente transcrito. A enzima TdT, que catalisa a adição de nucleotídeos N juncionais fora do molde (Fig. 8.11), é expressa de modo mais abundante durante o estágio pró-B, quando ocorre a recombinação VDJ no *locus* H de Ig, e os níveis de TdT diminuem antes de a recombinação do gene de cadeia leve ser concluída. Portanto, a diversidade juncional atribuída à adição de nucleotídeos N é mais proeminente em genes de cadeia pesada rearranjados do que em genes de cadeia leve.

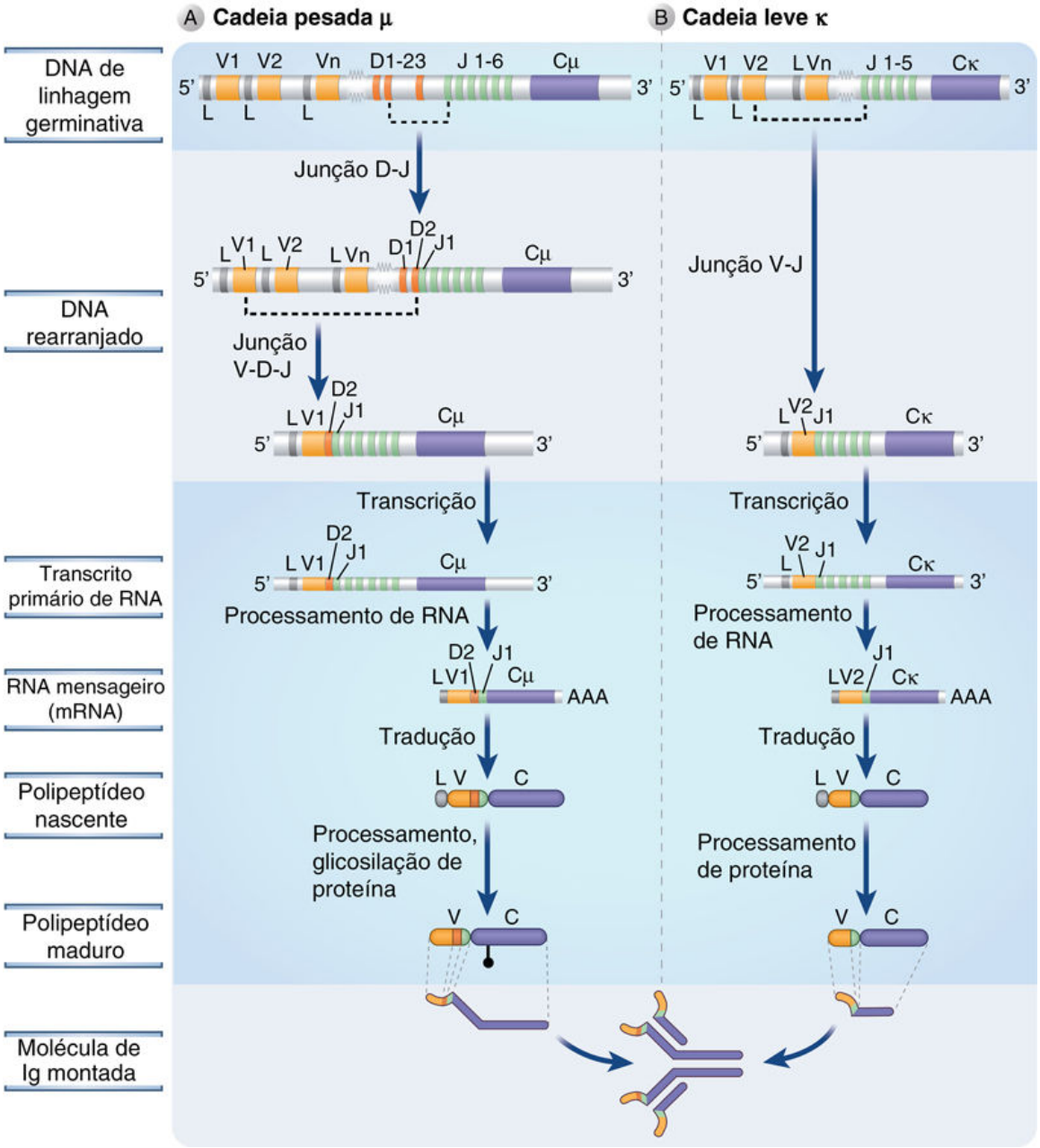


FIGURA 8.13 Recombinação e expressão de genes de cadeia pesada e leve de Ig.
A sequência de eventos de recombinação de DNA e expressão gênica é mostrada para a cadeia pesada μ de Ig **(A)** e para a cadeia leve κ de Ig **(B)**. No exemplo mostrado em **A,** a região V da cadeia pesada μ é codificada pelos segmentos gênicos V1, D2 e J1 rearranjados. No exemplo mostrado em **B,** a região V da cadeia κ é codificada pelos segmentos gênicos de V2 e J1.

Os éxons da região C da cadeia pesada permanecem separados do éxon VDJ recém-criado, por um DNA contendo os segmentos J distais e o íntron

J-C. O gene rearranjado da cadeia pesada de Ig é transcrito para produzir um transcrito primário que inclui o éxon VDJ rearranjado e os éxons Cμ. O RNA nuclear do gene de cadeia pesada rearranjado é clivado *downstream* a um dos dois sítios de poliadenilação de consenso, e múltiplos nucleotídeos de adenina, chamados caudas de poli-A, são adicionados à extremidade 3′. Esse RNA nuclear sofre *splicing*, um evento de processamento de RNA em que os íntrons são removidos e os éxons são unidos. No caso do RNA μ, são removidos os íntrons entre o éxon-líder e o éxon VDJ, entre o éxon VDJ e o primeiro éxon do *locus* Cμ, e entre cada um dos éxons de Cμ da região constante subsequente. Essas remoções originam um mRNA "emendado" (*spliced*) para a cadeia pesada μ. Se o mRNA é derivado de um *locus* de Ig em que o rearranjo foi produtivo, a tradução o mRNA da cadeia pesada μ rearranjado leva à síntese da proteína μ. Para um rearranjo ser produtivo (dentro do quadro de leitura correto) e, portanto, ser capaz de codificar corretamente uma proteína de Ig, os nucleotídeos devem ser adicionados ou removidos nas junções, em múltiplos de 3. Cerca da metade de todas as células pró-B fazem rearranjos produtivos no *locus* H de Ig em pelo menos um cromossomo, podendo, assim, prosseguir para a síntese da proteína da cadeia pesada μ. Apenas as células que fazem rearranjos produtivos sobrevivem e continuam sua diferenciação.

Uma vez feito um rearranjo produtivo de μ de Ig, a célula deixa de ser chamada célula pró-B e passa a ser uma célula diferenciada em estágio pré-B. As **células pré-B** são células de linhagem B em desenvolvimento que expressam a proteína μ de Ig, mas ainda têm de rearranjar seus *loci* de cadeia leve. A célula pré-B expressa a cadeia pesada μ na superfície celular, associada a outras proteínas, em um complexo chamado pré-receptor da célula B. Esse receptor exerce vários papéis importantes na maturação da célula B.

O Pré-receptor de Célula B

Os complexos de cadeia pesada μ, as cadeias leves substitutas e as proteínas transdutoras de sinal, Igα e Igβ, formam o pré--receptor antigênico da linhagem B, conhecido como pré-BCR. A cadeia pesada μ se associa a proteínas λ5 e V pré-B, também chamadas cadeias leves substitutas por serem estruturalmente homólogas às cadeias leves κ e λ, serem invariáveis (i.e., são idênticas em todas as células pré-B) e sintetizadas apenas em células pró- e pré-B (Fig. 8.14A). Esse receptor se associa a moléculas sinalizadoras Igα e Igβ para formar o complexo do pré-receptor B, similarmente ao complexo BCR em células B maduras

(Capítulo 7). Os sinais oriundos do pré-BCR são responsáveis pela maior expansão proliferativa das células da linhagem B durante o desenvolvimento das células B. Não se sabe se o pré-BCR reconhece algum ligante, sendo que, atualmente, a visão de consenso é a de que esse receptor atua de maneira ligante-independente e é ativado pelo processo de montagem. A importância dos pré-BCRs é ilustrada por estudos envolvendo camundongos *knockout* e casos raros de deficiências humanas desses receptores. Por exemplo, em camundongos, o *knockout* do gene codificador da cadeia μ ou de uma das cadeias leves substitutas resulta em números acentuadamente diminuídos de células B maduras, porque o desenvolvimento é bloqueado no estágio pró-B.

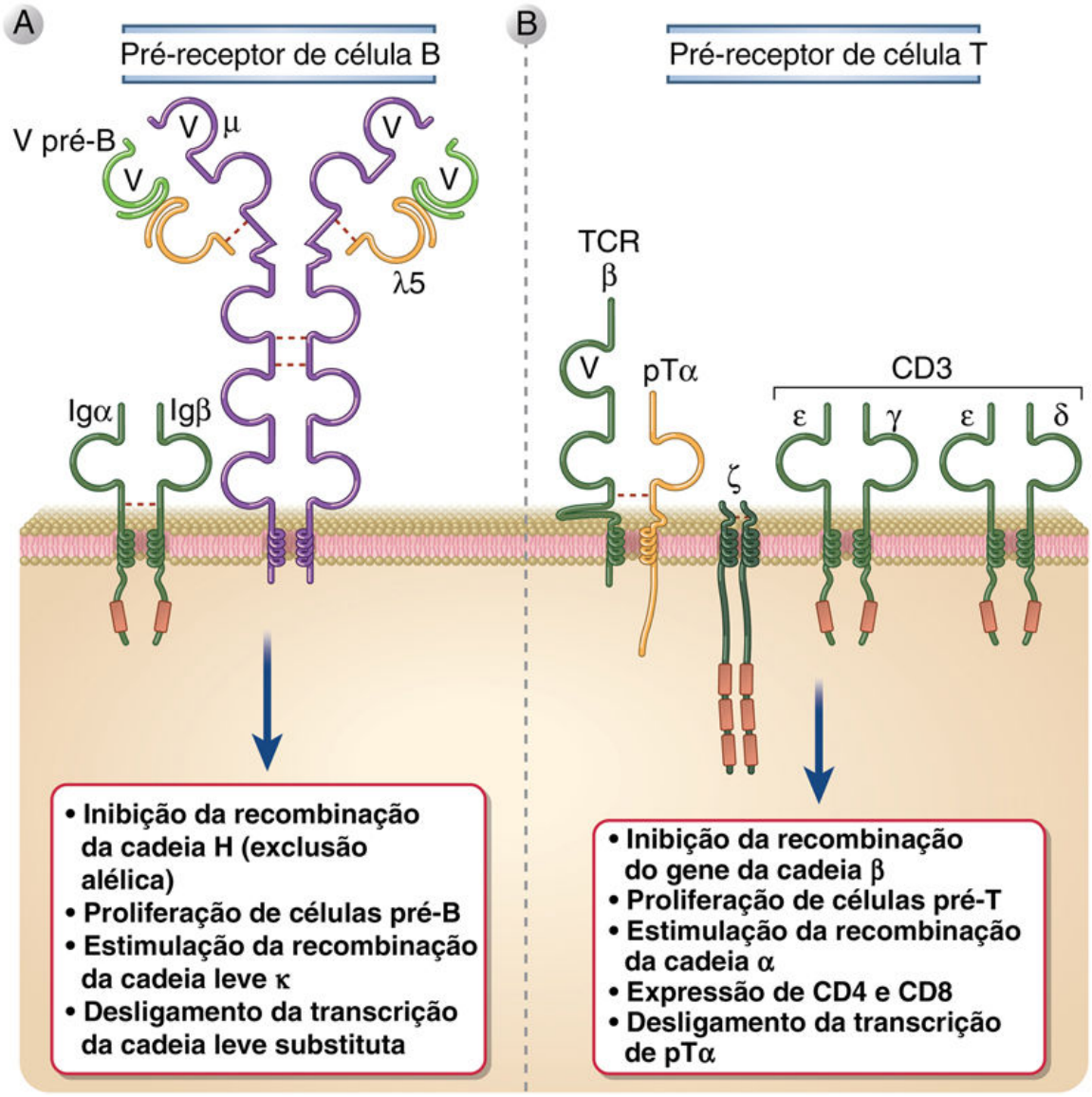


FIGURA 8.14 Pré-receptores de célula B e pré-receptores de célula T.

O pré-receptor de célula B **(A)** e o pré-receptor de célula T **(B)** são expressos durante os estágios de célula pré-B e pré-T da maturação, respectivamente, e ambos os receptores compartilham estruturas e funções similares. O pré-receptor de célula B é composto por uma cadeia pesada μ e por uma cadeia leve substituta invariável. A cadeia leve substituta é composta por duas proteínas: V e pré-B, homólogas a um domínio V de cadeia leve, e uma proteína λ5 que é ligada de modo covalente à cadeia pesada μ através de uma ligação dissulfeto. O pré-receptor de célula T é composto pela cadeia β do TCR e pela cadeia pré-T α (pTα) invariável. O pré-receptor de célula B está associado a moléculas sinalizadoras Igα e Igβ que também fazem parte do complexo BCR em células B maduras (Capítulo 9), e o pré-receptor de célula T se

associa às proteínas CD3 e ζ que também fazem parte do complexo TCR em células T maduras (Capítulo 7).

A expressão do pré-BCR é o primeiro ponto de controle na maturação da célula B. Numerosas moléculas sinalizadoras ligadas tanto ao pré-BCR como ao BCR são requeridas para as células "negociarem" de forma bem-sucedida o ponto de controle mediado pelo pré-BCR na transição da célula pró-B para pré-B. Uma quinase chamada tirosina quinase de Bruton (Btk) é ativada *downstream* ao pré-BCR e é requerida para a emissão dos sinais desse receptor que medeiam a sobrevivência, proliferação e maturação durante e após o estágio de célula pré-B. Em seres humanos, as mutações no gene *BTK* resultam em uma doença chamada **agamaglobulinemia ligada ao X (XLA, do inglês, *X-linked agammaglobulinemia*),** que é caracterizada por uma falha na maturação das células B (Capítulo 21). Em uma linhagem murina chamada Xid (para imunodeficiência ligada ao X), mutações em *btk* resultam em um defeito de células B menos grave, porque as células pré-B murinas expressam uma segunda quinase do tipo Btk chamada Tec, e isso compensa parcialmente a Btk defeituosa. Outras moléculas *upstream* e *downstream* a Btk requeridas neste ponto de controle incluem o gene de cadeia pesada μ, o gene λ5, Igα, Igβ, Syk, o adaptador de sinalização BLNK/SLP65, e a subunidade p85 de PI3K. Mutações nesses genes são causa de casos raros de agamaglobulinemia autossômica recessiva (Capítulo 21).

O pré-BCR regula o rearranjo adicional de genes de Ig de duas maneiras. Primeiro, se uma proteína μ é produzida a partir do *locus* da cadeia pesada recombinada em um cromossomo e forma um pré-BCR, esse receptor sinaliza de modo a inibir de forma irreversível o rearranjo do *locus* da cadeia pesada de Ig no outro cromossomo. Se o primeiro rearranjo não for produtivo, o alelo da cadeia pesada no outro cromossomo pode completar o rearranjo VDJ no *locus* H de Ig. Assim, em qualquer clone de célula B, um alelo de cadeia pesada é produtivamente rearranjado e expresso, e o outro é retido na configuração da linhagem germinativa ou rearranjado de modo não produtivo. Como resultado, uma célula B individual pode expressar uma proteína de cadeia pesada codificada por apenas um dos dois alelos herdados. Esse fenômeno é chamado **exclusão alélica**, e garante que toda célula B venha a expressar um único receptor, mantendo assim a especificidade clonal. Se ambos os alelos sofrerem rearranjos não produtivos no gene H de Ig, a célula em desenvolvimento não consegue produzir cadeias pesadas de Ig, não pode gerar um sinal de sobrevivência dependente de pré-BCR e, desse modo, sofre morte celular

programada. A exclusão alélica da cadeia pesada de Ig envolve alterações na estrutura cromatínica junto ao *locus* da cadeia pesada, as quais limitam a acessibilidade à recombinase V(D)J.

A segunda forma pela qual o pré-BCR regula a produção do receptor antigênico é estimulando o rearranjo do gene de cadeia leve κ. As células pré-B proliferam primeiro, como células pré-B grandes, e então desligam a expressão gênica da cadeia leve substituta e se tornam células pré-B pequenas que não se dividem e expressam cadeia pesada μ intracelularmente, além de rearranjarem seus genes de cadeia leve κ. Os sinais pré-BCR contribuem para tornar o *locus* de cadeia leve κ disponível às enzimas mediadoras da recombinação V(D)J. Se houver um rearranjo em quadro de leitura correto no *locus* κ, a célula produzirá uma proteína de cadeia leve κ que se associa à cadeia μ previamente sintetizada para produzir uma proteína IgM completa. Se o *locus* κ não for produtivamente rearranjado, a célula pode rearranjar o *locus* λ e, mais uma vez, produzir uma molécula de IgM completa.

A recombinação de DNA no *locus* da cadeia leve κ ocorre de maneira semelhante, como no *locus* da cadeia pesada de Ig (Fig. 8.13B). Não há segmentos D nos *loci* de cadeia leve e, portanto, a recombinação envolve apenas a junção de um segmento V a um segmento J, formando um éxon VJ. Este éxon VJ permanece separado da região C por um íntron e essa separação é retida no transcrito primário de RNA. O *splicing* do transcrito primário resulta na remoção do íntron entre os éxons VJ e C, gerando um mRNA que é traduzido para produzir a proteína κ ou λ. No *locus* λ, o *splicing* alternativo do RNA pode levar ao uso de qualquer um dos quatro éxons Cλ funcionais, mas não há diferença biológica comprovada entre os tipos resultantes de cadeias leves λ. A produção de uma proteína κ previne o rearranjo de λ, e este ocorre apenas se os rearranjos κ em ambos os *loci* de cadeia κ herdados tiverem sido não produtivos ou, mais comumente, se a cadeia leve κ rearranjada for deletada pela edição do receptor, uma vez que contribui para a formação de um BCR autorreativo (discutido adiante). Como resultado, um clone de célula B individual pode expressar apenas um dos dois tipos de cadeias leves; esse fenômeno é chamado exclusão de isotipo de cadeia leve. Como no *locus* de cadeia pesada, um gene κ ou λ é expresso a partir de apenas um dos dois cromossomos parentais em qualquer célula B, enquanto o outro alelo é excluído. Do mesmo modo, assim como para as cadeias pesadas, se ambos os alelos das cadeias κ e λ forem rearranjados de modo não funcional em uma célula B em desenvolvimento, essa célula irá falhar em receber os sinais de sobrevivência normalmente gerados pelo BCR e morrerá.

Células B Imaturas

A primeira célula a expressar IgM durante o desenvolvimento da célula B é chamada célula B imatura. As moléculas de IgM montadas nas células B imaturas e em todos os estágios posteriores do desenvolvimento são expressas na superfície celular associadas à Igα e à Igβ, onde atuam como receptores antigênicos específicos. Nas células que não são fortemente autorreativas, o BCR fornece sinais tônicos ligante-independentes que ocorrem aparentemente na ausência de qualquer antígeno. A montagem do BCR completo é suficiente para ativar moléculas incluindo a PI-3 quinase que mantêm a célula B viva. Esses sinais também suprimem a expressão do gene *RAG*, prevenindo assim o rearranjo do gene de Ig. As células B imaturas não proliferam e se diferenciam em resposta aos antígenos. De fato, se reconhecerem antígenos na medula óssea com alta avidez, o que pode acontecer se as células B expressarem receptores para autoantígenos multivalentes presentes na medula óssea, as células B podem sofrer edição de receptor ou morte celular, conforme descrito posteriormente. Esses processos são importantes para a seleção negativa de células B fortemente autorreativas. As células B imaturas que não apresentam forte autorreatividade saem da medula óssea e completam sua maturação no baço, antes de migrarem para outros órgãos linfoides periféricos.

Subpopulações de Células B Maduras

As células B na periferia são constituídas por subpopulações distintas que se desenvolvem a partir de progenitores diferentes (Fig. 8.15). As CTHs derivadas da medula originam a maioria das células B. Essas células, também chamadas células B-2, rapidamente passam por dois estágios transicionais e podem se comprometer com o desenvolvimento em **células B da zona marginal** ou em **células B foliculares**. As **células B-1** representam uma linhagem distinta que se desenvolve a partir de CTHs derivadas do fígado fetal.

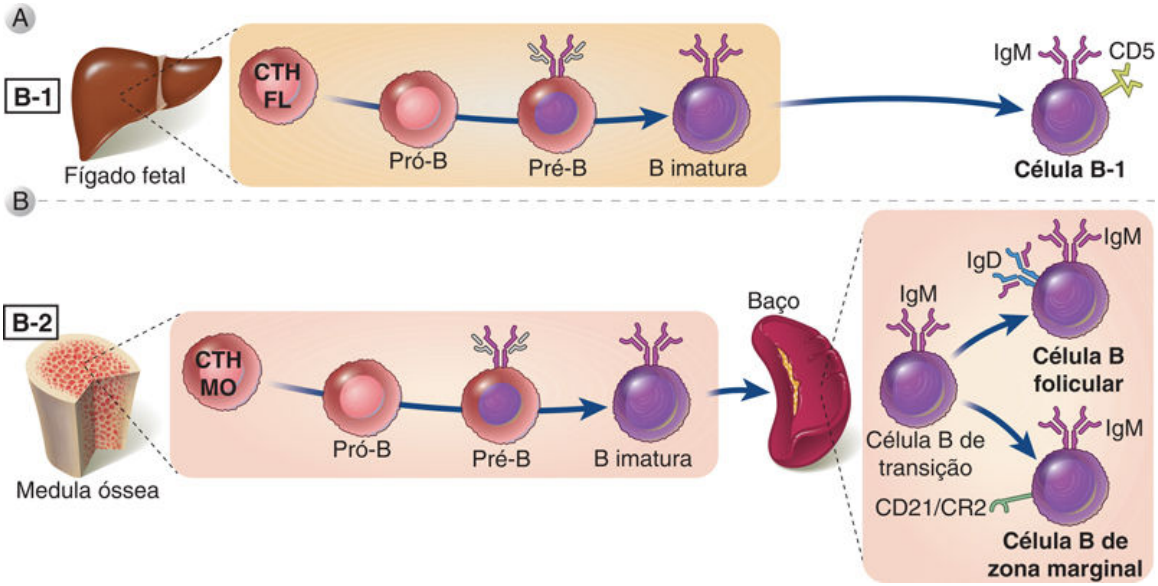


FIGURA 8.15 Subpopulações de linfócito B.
A, A maioria das células B que se desenvolvem a partir de células-tronco do fígado fetal se diferenciam em células da linhagem B-1. **B,** Os linfócitos que surgem a partir de precursores da medula óssea após o nascimento originam a linhagem B-2. As duas subpopulações principais de linfócitos B derivam dos precursores da célula B do tipo B-2. As células foliculares são linfócitos recirculantes; as células B da zona marginal são abundantes no baço de roedores, mas também podem ser encontradas nos linfonodos em humanos. O CD21 é expresso em células B foliculares e da zona marginal, mas os níveis deste correceptor são maiores nas células B da zona marginal.

Células B Foliculares

A maioria das células B maduras pertence à subpopulação de células B foliculares e produzem IgD associada à membrana além de IgM. Cada uma dessas células B coexpressa cadeias pesadas μ e δ de Ig usando o mesmo éxon VDJ para gerar o domínio V. Em cada célula B, essas proteínas de cadeia pesada se associam com a mesma cadeia leve κ ou λ para produzir dois receptores de membrana com a mesma especificidade antigênica. Cada célula B produz um longo transcrito primário de RNA contendo a unidade VDJ rearranjada que codifica o domínio V, bem como ambos os genes Cμ e Cδ (Fig. 8.16). Se o transcrito primário for clivado e poliadenilado após os éxons μ, então após o *splicing* do RNA o éxon VDJ se torna contínuo com os éxons Cμ, resultando na geração de um mRNA de μ. Por outro lado, se o complexo VDJ não for ligado aos éxons Cμ mas for emendado por *splicing* aos éxons Cδ, um mRNA δ é produzido. A

tradução subsequente resulta na síntese de uma proteína de cadeia pesada μ ou δ completa, contendo a mesma região V e, portanto, tendo a mesma especificidade. Os mecanismos precisos que regulam a escolha dos sítios aceptores de poliadenilação ou *splice*, por meio dos quais o VDJ rearranjado é unido a Cμ ou Cδ, são pouco conhecidos, assim como os sinais que determinam quando e por que uma célula B expressa IgM e IgD em vez de apenas IgM.

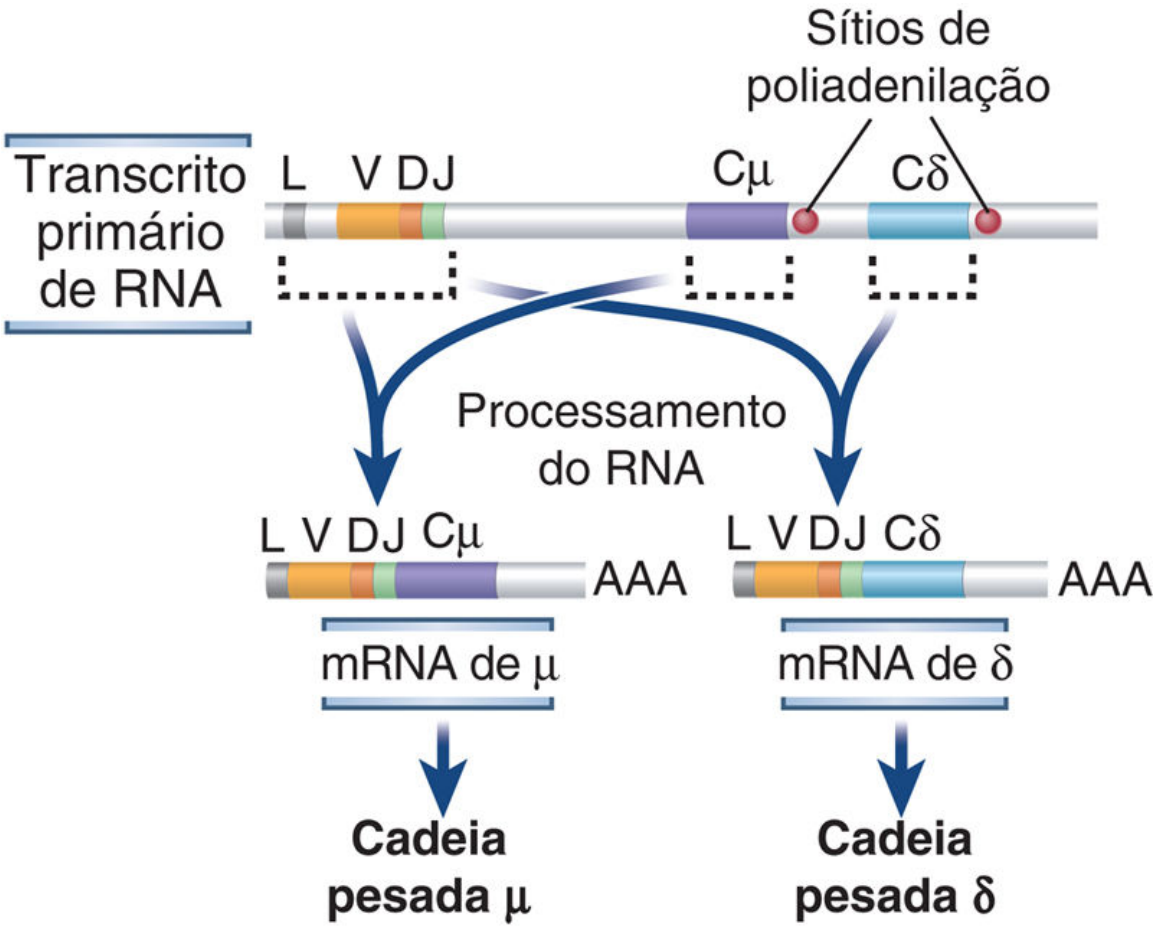


FIGURA 8.16 Coexpressão de IgM e IgD.
O processamento alternativo do transcrito primário de RNA resulta na formação de um mRNA de μ ou δ. As linhas pontilhadas indicam segmentos de cadeia H que são unidos por *splicing* de RNA.

A coexpressão de IgM e IgD é acompanhada pela habilidade de recircular e pela aquisição de competência funcional, e é por isso que as células B IgM^+IgD^+ também são chamadas células B maduras. Essa correlação entre expressão de IgD e aquisição de competência funcional

tem levado à sugestão de que a IgD é o receptor de ativação essencial das células B maduras. No entanto, não há evidência de que exista alguma diferença funcional entre a IgM de membrana e a IgD de membrana. Além disso, o *knockout* do gene δ de Ig em camundongos não exerce impacto significativo sobre a maturação ou as respostas antígeno-induzidas de células B. As células B foliculares também são frequentemente chamadas células B recirculantes por migrarem de um órgão linfoide secundário para o outro e, junto a esses órgãos, residirem em folículos (Capítulo 2).

As células B foliculares *naive* sobrevivem por períodos limitados, até encontrarem o antígeno (Capítulo 2). A sobrevivência da célula B folicular depende de sinais antígeno-independentes "tônicos" oriundos do BCR, bem como dos estímulos recebidos de uma citocina chamada BAFF (do inglês, *B cell-activating factor of the TNF family*; também conhecida como BLys [do inglês, *B lymphocyte stimulator*]), que fornece sinais de maturação e sobrevida através do receptor de BAFF. BAFF e um ligante relacionado, APRIL, também podem se ligar a dois outros receptores, TACI e BCMA, que participam nos estágios mais tardios da ativação e diferenciação da célula B (e serão discutidos no Capítulo 12). Essas citocinas são produzidas por células reticulares fibroblásticas e por células mieloides nos folículos linfoides e na medula óssea. As células B foliculares *naive*, assim como as células T *naive* recirculantes, saem dos linfonodos através dos linfáticos eferentes, entram no sangue e voltam aos linfonodos pelas vênulas de endotélio alto (Capítulo 3).

As células B *naive* maduras são responsivas a antígenos e, a menos que encontrem antígenos que reconheçam com alta afinidade e aos quais respondam, morrem em poucos meses. No Capítulo 12, discutiremos como essas células respondem aos antígenos e como o padrão de expressão do gene de Ig muda durante a diferenciação da célula B antígeno-induzida.

Células B-1 e Células B da Zona Marginal

Uma subpopulação de linfócitos B, chamados células B-1, expressam receptores antigênicos com diversidade limitada e podem exercer papéis na imunidade humoral diferentes dos papéis das células B foliculares As células B-1 se desenvolvem a partir de CTHs derivadas do fígado fetal e são mais bem definidas em roedores. A maioria das células B-1 murinas expressam a molécula CD5. Após o nascimento, amplos números dessas células são encontrados na forma de uma população autorrenovável no peritônio e em sítios de mucosa. Desenvolvem-se mais precocemente durante a ontogenia do que as células B foliculares e da zona marginal;

expressam um repertório relativamente limitado de genes V; e exibem uma diversidade juncional significativamente menor do que a das células B convencionais (porque a TdT não é expressa em células B-1 em desenvolvimento no fígado fetal). As células B-1 secretam espontaneamente anticorpos IgM que muitas vezes reagem com polissacarídeos microbianos e lipídeos, bem como com lipídeos oxidados produzidos por peroxidação lipídica. A maioria dos anticorpos IgM contra antígenos do grupo sanguíneo ABO derivam das células B-1. Esses anticorpos às vezes são chamados **anticorpos naturais**, porque estão presentes em indivíduos sem imunização evidente, embora seja possível que a flora microbiana presente no intestino seja a fonte de antígenos que estimulam sua produção. As células B-1 contribuem para a rápida produção de anticorpos contra microrganismos presentes em tecidos particulares, como o peritônio. Em sítios de mucosa, até metade dos plasmócitos secretores de IgA na lâmina própria podem ser derivados de células B-1. Essas são células análogas às células T $\gamma\delta$, no sentido de que ambas têm repertórios de receptor antigênico de diversidade limitada e se presume que ambas respondam aos antígenos comumente encontrados nas interfaces epiteliais com o ambiente externo. Células do tipo B-1 foram descritas em serem humanos, contudo os marcadores dessa população se sobrepõem aos das células B ativadas, dificultando a definição das células B-1 humanas.

As células B da zona marginal estão localizadas primariamente nas vizinhanças do seio marginal no baço, e são similares às células B-1 quanto à sua limitada diversidade e sua habilidade de responder a antígenos polissacarídicos, bem como de gerar anticorpos naturais. As células B da zona marginal são encontradas em camundongos e seres humanos, e expressam IgM na ausência de IgD, além de altos níveis do correceptor CD21, que as distingue das células B foliculares. Em seres humanos, as células B da zona marginal não podem ser distinguidas das células de memória produtoras de IgM. Em camundongos, as células B da zona marginal somente existem no baço, enquanto em seres humanos, podem ser encontradas no baço e também nos linfonodos. As células B da zona marginal respondem muito rápido aos microrganismos transmitidos pelo sangue e se diferenciam em plasmócitos secretores de IgM de vida curta. Essas células B também podem participar nas respostas imunes T-dependentes e podem colaborar com as células NKT nas respostas a antígenos lipídicos.

Seleção do Repertório da Célula B Madura

O repertório das células B maduras é positivamente selecionado a partir do *pool* de células B imaturas. Conforme discutiremos depois, a seleção positiva é bem definida nos linfócitos T e é responsável pela correspondência dos TCRs nas células T $CD8^+$ e $CD4^+$ recém-geradas com sua habilidade de reconhecer moléculas próprias do MHC de classes I e II, respectivamente. Não há restrição comparável para o reconhecimento antigênico pela célula B. Mesmo assim, a seleção positiva parece ser um fenômeno geral primariamente ajustado para identificar linfócitos que completaram com êxito seu programa de rearranjo dos genes do receptor antigênico. Somente as células B que expressam moléculas de Ig de membrana funcionais recebem sinais BCR-derivados constitutivos (tônicos) que, como descrito antes, são requeridos para manter as células B imaturas vivas. Os autoantígenos podem influenciar a força do sinal de BCR e, desse modo, a escolha subsequente da linhagem de células B periféricas durante a maturação da célula B.

As células B imaturas que reconhecem autoantígenos com alta avidez frequentemente são induzidas a alterar suas especificidades por meio de um processo chamado **edição do receptor**. O reconhecimento do autoantígeno por células B imaturas induz reativação de genes *RAG*, bem como o rearranjo e produção de uma nova cadeia leve de Ig, permitindo que a célula expresse um receptor de célula B diferente (editado) que não é autorreativo. O éxon VJκ original codificando o domínio variável de um gene de cadeia leve autorreativo é tipicamente deletado e substituído por um novo rearranjo envolvendo um segmento gênico Vκ *upstream* e outro Jκ *downstream*. Se o processo de edição falhar em gerar um rearranjo de cadeia leve κ produtivo em quadro de leitura em um cromossomo, a célula B imatura ativada pode então seguir para o rearranjo da cadeia leve λ primeiramente em um cromossomo e, se este não for produtivo, então no outro cromossomo. Quase todas as células B portadoras de cadeias leve λ são, portanto, derivadas de células B imaturas que eram autorreativas e passaram pela edição do receptor.

Se a edição do receptor falhar, as células B imaturas expressando receptores de alta afinidade para autoantígenos que encontram esses antígenos na medula óssea ou no baço podem morrer por apoptose. Esse processo também é chamado de **seleção negativa**. Os antígenos mediadores da seleção negativa — em geral, autoantígenos abundantes ou polivalentes, como ácidos nucleicos, lipídeos ligados a membrana e proteínas de membrana — emitem sinais fortes para os linfócitos B imaturos que expressam IgM e por acaso tenham receptores específicos para estes autoantígenos. Ambas, edição do receptor e deleção, são

responsáveis pela manutenção da tolerância das células B aos autoantígenos presentes na medula óssea (Capítulo 15).

Uma vez feita a transição para o estágio de célula B madura $IgM^{+}IgD^{+}$, o reconhecimento antigênico leva à proliferação e diferenciação, mas não à edição do receptor nem à apoptose. Como resultado, as células B maduras que reconhecem antígenos com alta afinidade nos tecidos linfoides periféricos são ativadas e esse processo leva a respostas imunes humorais. As células B foliculares produzem a maioria das respostas de anticorpo dependentes de célula T auxiliar a antígenos proteicos (Capítulo 12).

Desenvolvimento do Linfócito T

O desenvolvimento de linfócitos T maduros a partir de progenitores comprometidos envolve o rearranjo sequencial e a expressão de genes de TCR, proliferação celular, seleção antígeno-induzida e comprometimento com subpopulações fenotípica e funcionalmente distintas (Fig. 8.17). De muitos modos, isso é similar à maturação da célula B. Entretanto, a maturação da célula T tem alguns aspectos exclusivos que refletem a especificidade da maioria dos linfócitos T por antígenos peptídicos ligados ao MHC próprio, bem como a necessidade de um microambiente especial para a seleção de células com esta especificidade.

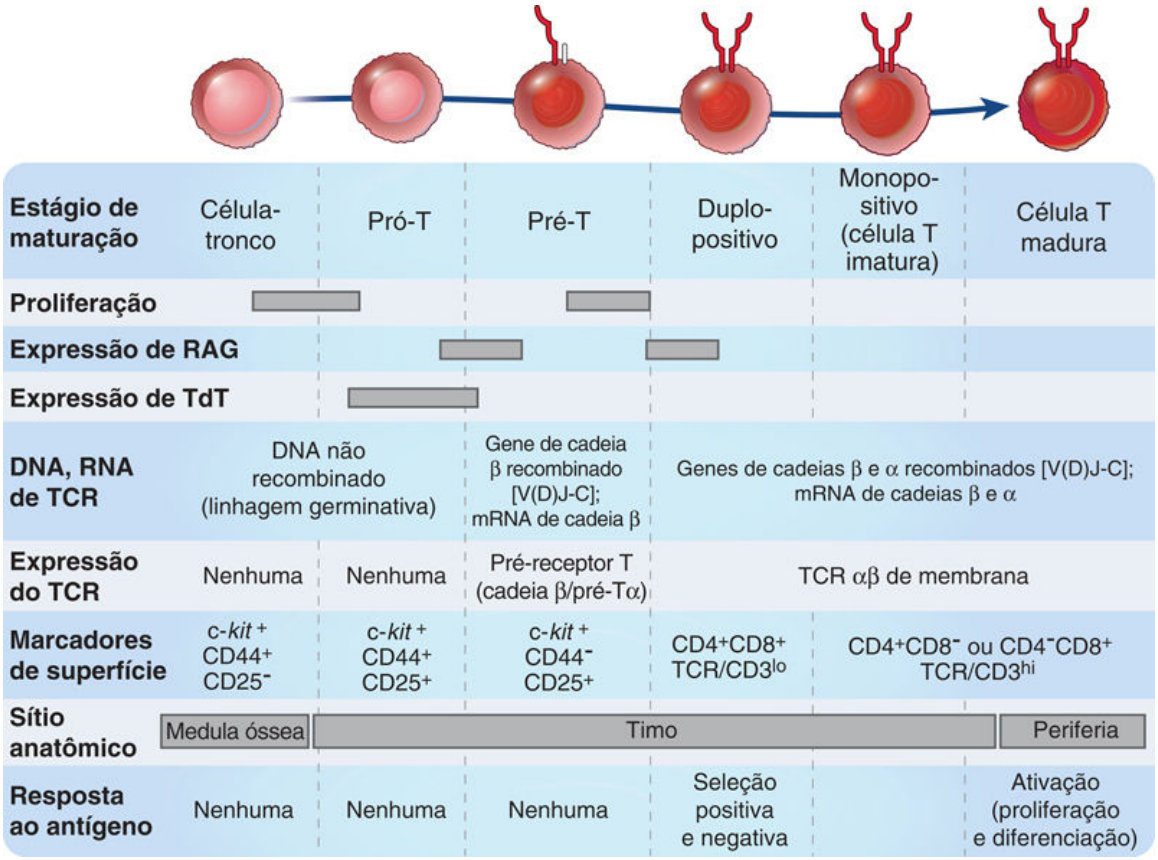


FIGURA 8.17 Estágios da maturação da célula T.
Os eventos correspondentes a cada estágio da maturação da célula T a partir de uma célula-tronco da medula óssea em linfócito T maduro são ilustrados. Vários marcadores de superfície, além daqueles mostrados, foram usados para definir os estágios distintos da maturação da célula T.

Papel do Timo na Maturação da Célula T

O timo é o principal sítio de maturação de células T. O timo involui com a idade e é quase indetectável nos seres humanos após a puberdade, o que resulta em redução gradativa na produção de células T maduras. Entretanto, algumas células T maduras persistem ao longo da vida adulta, como indicado pela reconstituição bem-sucedida do sistema imune em receptores adultos de transplantes de medula óssea. É possível que o remanescente do timo involuído seja adequado para certo grau de maturação de células T. Como as células T de memória têm expectativa de vida longa (talvez, superior a 20 anos em seres humanos) e se acumulam com o avanço da idade, a necessidade de gerar novas células T diminui conforme os indivíduos envelhecem (Fig. 2.10; Capítulo 2).

Os linfócitos T se originam de precursores que surgem no fígado fetal e na medula óssea adulta, e são semeados no timo. Esses precursores são progenitores multipotentes que entram no timo a partir da corrente sanguínea, atravessando o endotélio de vênulas pós-capilares na região da junção corticomedular do timo. Em camundongos, os linfócitos maduros são detectados pela primeira vez no timo no 11° dia de uma gestação normal de 21 dias. Isso corresponde aproximadamente a 7ª ou 8ª semana de gestação em seres humanos. As células T em desenvolvimento no timo são chamadas **timócitos**. Os timócitos mais imaturos são encontrados no seio subcapsular e na região cortical externa do timo. A partir desse local, os timócitos migram para dentro e ao longo do córtex, onde ocorre a maioria dos eventos subsequentes de maturação. No córtex, os timócitos primeiramente expressam TCRs $\gamma\delta$ e $\alpha\beta$. As células T $\alpha\beta$ amadurecem em células T $CD4^+$ restritas ao MHC de classe II ou em células T $CD8^+$ restritas ao MHC de classe I, conforme saem do córtex e entram na medula. A partir da medula, os timócitos simples-positivos $CD4^+$ ou $CD8^+$ saem do timo pela circulação. Discutiremos a maturação das células T $\alpha\beta$ nas próximas seções, e as células T $\gamma\delta$ serão discutidas posteriormente, neste capítulo.

O ambiente tímico fornece estímulos que são requeridos para a proliferação e maturação dos timócitos. Muitos desses estímulos são oriundos de células tímicas diferentes das células T em maturação. Junto ao córtex, as células epiteliais corticais tímicas formam um rede de longos processos citoplasmáticos ao redor dos quais os timócitos devem passar para chegar à medula. As células epiteliais de um tipo distinto conhecidas como células epiteliais medulares tímicas também estão presentes na medula e podem exercer um único papel na apresentação de autoantígenos para a seleção negativa das células T em desenvolvimento (Capítulo 15). As células dendríticas derivadas da medula óssea estão presentes na junção corticomedular e junto à medula, enquanto os macrófagos estão presentes primariamente junto à medula. A migração dos timócitos por esse arranjo anatômico permite interações físicas entre os timócitos e estas outras células que são necessárias à maturação e seleção dos linfócitos T. As células epiteliais e as células dendríticas no timo expressam moléculas de MHC de classes I e II. As interações de timócitos em maturação com estas moléculas de MHC são essenciais para a seleção do repertório de célula T madura, como discutiremos depois.

O movimento das células para dentro e ao longo do timo é dirigido pelas quimiocinas. Os progenitores dos timócitos expressam o receptor de quimiocina CCR9. A entrada desses precursores no timo depende da

ligação de CCR9 à quimiocina ligante CCL25, produzida no córtex tímico. Quimiocinas como CCL21 e CCL19, que se ligam ao receptor de quimiocina CCR7 nos timócitos, dirigem o movimento das células T em desenvolvimento a partir do córtex para a medula. Eventualmente, os linfócitos T recém-formados, que expressam o receptor de esfingosina-1 fosfato (Capítulo 3), saem da medula tímica seguindo um gradiente de esfingosina-1 fosfato e entram na corrente sanguínea.

As células estromais tímicas, incluindo as células epiteliais, secretam IL-7, que foi mencionada anteriormente como fator de crescimento linfopoiético essencial. As taxas de proliferação e morte apoptótica celulares são extremamente altas em timócitos corticais. Um único precursor origina muitas progênies e 95% dessas células morrem por apoptose antes de atingirem a medula. A morte celular é devido a uma combinação de fatores, entre os quais a falha em rearranjar produtivamente o gene da cadeia β do TCR e, portanto, a falha na seleção do ponto de controle pré-TCR/β (descrita adiante), a falha em ser positivamente selecionado por moléculas de MHC próprias no timo e a seleção negativa induzida por autoantígeno (Fig. 8.3).

Estágios da Maturação da Célula T

Durante a maturação da célula T, existe uma ordem precisa em que os genes de TCR são rearranjados e na qual o TCR e os correceptores CD4 e CD8 são expressos (Fig. 8.18; Fig. 8.17). No timo fetal murino, a expressão de superfície do TCR γδ ocorre primeiro, decorridos 3-4 dias da primeira chegada das células precursoras, e o TCR αβ é expresso após 2-3 dias. Em timócitos fetais humanos, a expressão de TCR γδ começa em cerca de 9 semanas de gestação, seguida pela expressão do TCR αβ em 10 semanas.

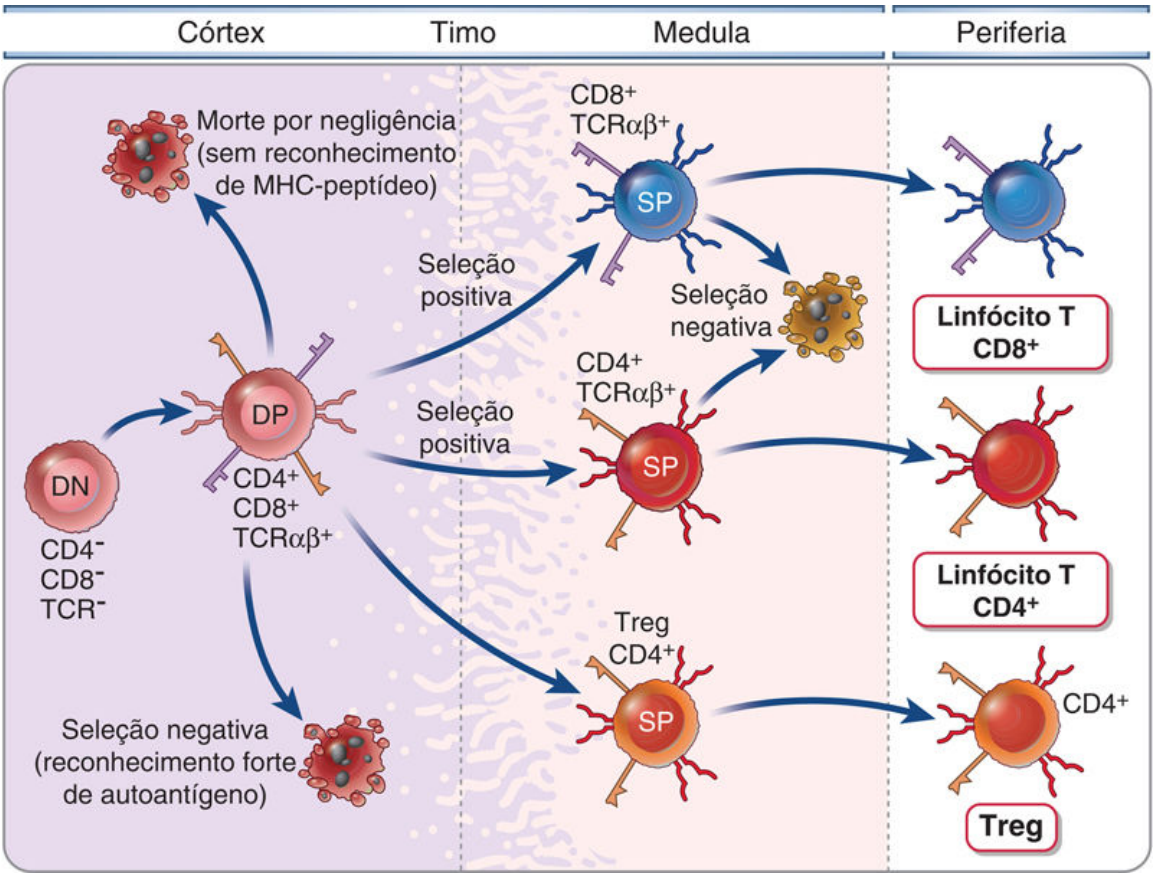


FIGURA 8.18 Visão geral do desenvolvimento das células T no timo.
Os precursores das células T saem da medula óssea através do sangue e seguem para o timo. Os progenitores das células T α são células T αβ duplo-negativas (DN). No córtex tímico, essas células começam a expressar TCRs e correceptores CD4 e CD8. Os processos de seleção eliminam células T autorreativas no córtex, no estágio duplo-positivo (DP), e também eliminam timócitos medulares simples-positivos (SP). Promovem sobrevivência de timócitos cujos TCRs se ligam com baixa afinidade a moléculas de MHC próprias. A diferenciação funcional e fenotípica em células T SP $CD4^+CD8^-$ ou $CD8^+CD4^-$ ocorre na medula, enquanto as células maduras são liberadas na circulação. Algumas células duplo-positivas se diferenciam em células T reguladoras $CD4^+CD8^-$ (Treg, Capítulo 15). O desenvolvimento de células T γδ foi omitido.

Timócitos Duplo-Negativos

A maioria dos timócitos corticais imaturos, que são recém-chegados da medula óssea, contêm genes de TCR em sua configuração de linhagem germinativa e não expressam TCR, CD3, cadeias ζ, CD4 ou CD8; essas

células são chamadas **timócitos duplo-negativos**. Os timócitos nesse estágio são considerados do estágio de maturação pró-célula T. A maioria (>90%) dos timócitos duplo-negativos que sobrevivem aos processos de seleção tímica por fim originarão células T $CD4^+$ e $CD8^+$ MHC-restritas, expressando TCR $\alpha\beta$; alguns timócitos duplo negativos originam células T $\gamma\delta$. As proteínas Rag-1 e Rag-2 são expressas primeiramente no estágio duplo-negativo do desenvolvimento da célula T e são requeridas para o rearranjo dos genes TCR. Em células T $\alpha\beta$, os rearranjos Dβ-para-Jβ no *locus* da cadeia β do TCR ocorrem primeiro; esses rearranjos envolvem a junção do segmento do gene Dβ1 a um dos seis segmentos Jβ1 ou a junção do segmento Dβ2 a um dos seis segmentos Jβ2 (Fig. 8.19A). Os rearranjos Vβ-para-DJβ ocorrem na transição entre o estágio pró-T e o estágio pré-T subsequente durante o desenvolvimento da célula T $\alpha\beta$. As sequências de DNA entre os segmentos submetidos ao rearranjo, incluindo D, J e possivelmente os genes de Cβ1 (se os segmentos Dβ2 e Jβ2 forem usados), são deletados durante este processo de rearranjo. Os transcritos nucleares primários dos genes β do TCR contêm o íntron entre o éxon VDJβ recombinado e o gene Cβ relevante (bem como os 3 íntrons adicionais entre os 4 éxons que constituem cada gene Cβ, exibidos na figura como um único éxon para fins de conveniência). Caudas poli-A são adicionadas após a clivagem do transcrito primário *downstream* aos sítios de poliadenilação de consenso localizados a 3′ da região Cβ, e as sequências entre o éxon VDJ e Cβ são removidas (*spliced out*) para formar um mRNA maduro em que os segmentos VDJ estão justapostos ao primeiro éxon de qualquer um dos dois genes Cβ (dependendo de qual segmento J foi selecionado durante o processo de rearranjo). A tradução deste mRNA origina uma proteína de TCR β inteira. Os dois genes Cβ parecem ser funcionalmente intercambiáveis e o uso de um gene Cβ não influencia a especificidade do TCR. Além disso, uma célula T individual nunca troca de um gene *C* para outro. Os promotores nas regiões flanqueadoras 5′ dos genes Vβ atuam juntos com um poderoso intensificador localizado a 3′ do gene de Cβ2, uma vez que genes *V* funcionais rearranjados sejam aproximados do gene *C* por recombinação VDJ. Essa proximidade do promotor em relação ao intensificador é responsável pelo alto nível de transcrição célula T-específica do gene da cadeia β do TCR rearranjado. Após a adição e remoção de nucleotídeos durante o rearranjo gênico, cerca de metade de todas as células pré-T em desenvolvimento contêm novos nucleotídeos no gene da cadeia β do TCR que são múltiplos de 3 (em 1 dos 2 *loci* do TCR β herdados), portanto, apenas cerca de metade de todas as células pré-T expressam uma proteína β do TCR. A etapa seguinte no

desenvolvimento da célula T consiste na seleção de células que expressam a primeira cadeia do receptor antigênico e podem passar por este ponto de controle.

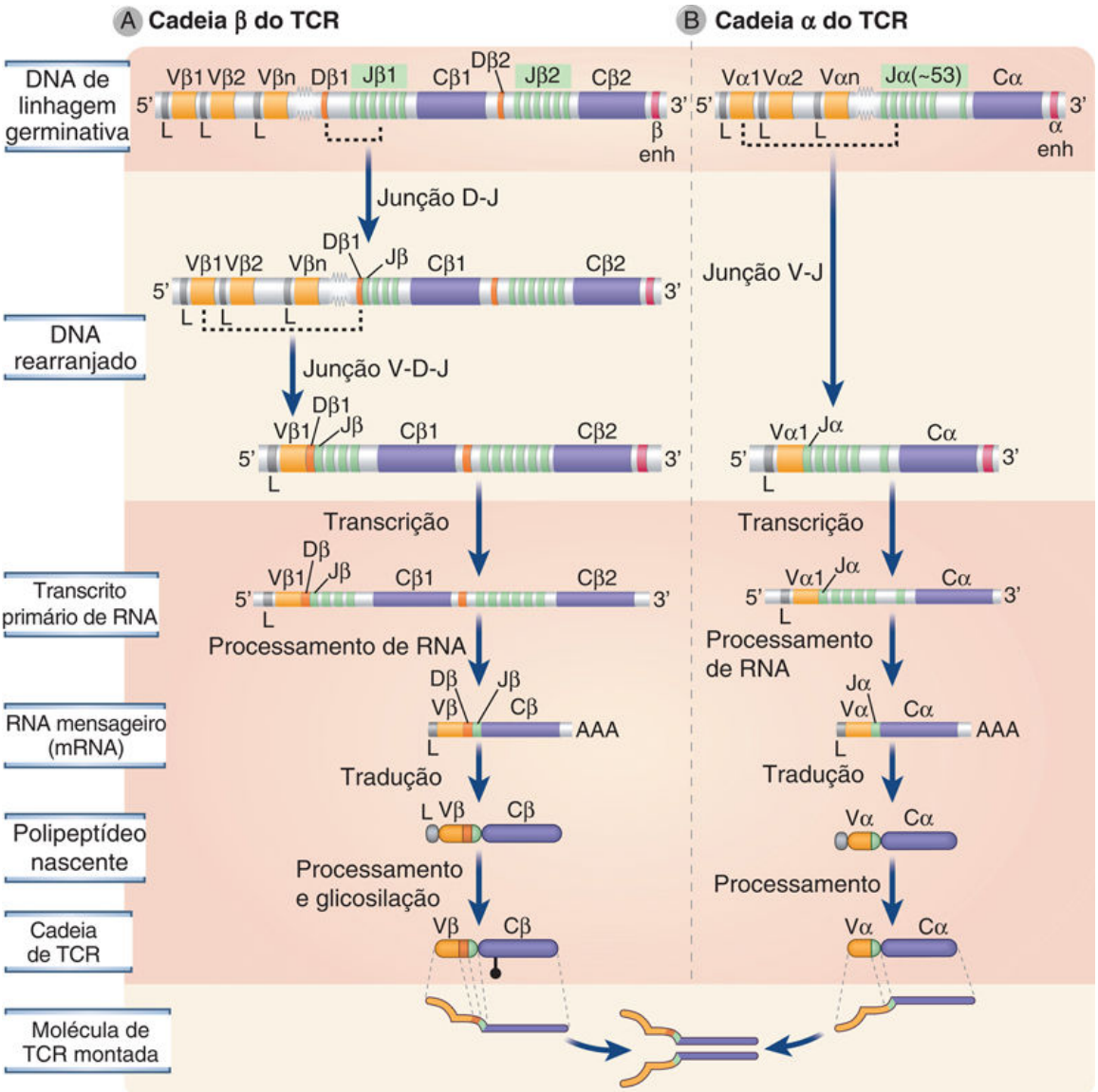


FIGURA 8.19 Recombinação e expressão dos genes de cadeias α e β do TCR.
A sequência de eventos de recombinação e expressão gênica é mostrada para as cadeias β **(A)** e α **(B)** do TCR. No exemplo mostrado em A, a região variável (V) da cadeia β do TCR rearranjada inclui os segmentos gênicos Vβ1 e Dβ1, bem como o terceiro segmento J no grupamento Jβ1. A região constante (C), neste exemplo, é codificada pelos éxons do gene Cβ1, representado por conveniência como um éxon único. Note que no *locus* da cadeia β do TCR, o rearranjo começa com a junção D-para-J seguida pela junção V-para-DJ. Em seres humanos, foram identificados 14 segmentos Jβ e nem todos foram representados na figura. No exemplo mostrado em **B**, a região V da cadeia α do TCR inclui o gene Vα1 e o segundo segmento J no grupamento Jα.

(Esse grupamento é constituído por até 61 segmentos Jα em seres humanos; nem todos foram mostrados aqui.)

Pré-receptor de Célula T

Se um rearranjo produtivo (i.e., em quadro de leitura) do gene da cadeia β do TCR ocorrer em uma dada célula T duplo-negativa, a cadeia β do TCR será expressa na superfície celular associada a uma proteína invariável chamada pré-Tα, aliada às proteínas CD3 e ζ, para formar o complexo pré-TCR (Fig. 8.14B). O pré-TCR medeia a seleção das células pré-T em desenvolvimento que foram bem-sucedidas no rearranjo da cadeia β do TCR. A função do complexo pré-TCR no desenvolvimento da célula T é similar à do complexo pré--BCR contendo cadeia leve substituta no desenvolvimento da célula B. Os sinais oriundos do pré-TCR medeiam a sobrevida das células pré-T que fizeram o rearranjo produtivo do gene da cadeia β do TCR e contribuem para a maior expansão proliferativa durante o desenvolvimento da célula T. Os sinais pré-TCR também iniciam a recombinação no *locus* da cadeia α do TCR e dirigem a transição do estágio duplo-negativo para o estágio duplo-positivo do desenvolvimento do timócito (discutido adiante). Em adição, esses sinais inibem o rearranjo adicional do *locus* da cadeia β do TCR no alelo não rearranjado. Isso resulta na exclusão alélica da cadeia β (i.e., células T maduras expressam uma cadeia de receptor antigênico oriunda de apenas um dos dois *loci* de cadeia β herdados). Como nas células pré-B, não é sabido qual (se houver algum) ligante o pré-TCR reconhece. A sinalização do pré-TCR, assim como a sinalização do pré-BCR, pode ser iniciada de maneira independente de ligante, após a montagem bem-sucedida do complexo pré-TCR. A sinalização pré-TCR é mediada por algumas quinases citosólicas e proteínas adaptadoras que também estão ligadas à sinalização do TCR (Capítulo 7). A função essencial do complexo pré-TCR na maturação da célula T foi demonstrada por numerosos estudos com camundongos geneticamente mutantes, nos quais uma perda de qualquer componente do complexo pré-TCR (i.e., a cadeia β do TCR, pré-Tα, CD3, ζ ou Lck) resulta em bloqueio na maturação de células T no estágio duplo-negativo. As mutações de CD3ε em seres humanos resultam em SCID (Capítulo 21), enquanto mutações em Lck em seres humanos resultam na quase ausência de células T $CD4^+$. (Sinais de Lck mais intensos são requeridos para o desenvolvimento da célula T $CD4^+$ do que para a célula T $CD8^+$ durante a seleção positiva, discutida adiante.)

Timócitos Duplo-Positivos

No próximo estágio da maturação da célula T, os timócitos expressam ambos, CD4 e CD8, e são chamados timócitos duplo-positivos. A expressão de CD4 e CD8 é essencial para os eventos subsequentes de seleção. O rearranjo dos genes da cadeia α do TCR e a expressão dos heterodímeros $\alpha\beta$ do TCR ocorrem logo depois que as células cruzam o ponto de controle pré-TCR (Figs. 8.17 e 8.18). Uma segunda onda de expressão do gene *RAG* no final do estágio pré-T promove recombinação do gene α do TCR. Como não há segmentos D no *locus* α do TCR, o rearranjo consiste na junção apenas dos segmentos V e J (Fig. 8.19B). O grande número de segmentos Jα permite múltiplas tentativas na junção V-J produtiva em cada cromossomo, aumentando assim a probabilidade de que um TCR $\alpha\beta$ funcional seja produzido. Em contraste com o *locus* da cadeia β do TCR, onde a produção da proteína e a formação do pré-TCR suprimem rearranjos adicionais, há pouca ou nenhuma exclusão no *locus* da cadeia α. Sendo assim, podem ocorrer rearranjos produtivos de α do TCR em ambos os cromossomos e, se isso acontecer, a célula T expressará duas cadeias α. De fato, até 30% das células T periféricas maduras expressam dois TCRs diferentes, com cadeias α diferentes, porém a mesma cadeia β em cada célula. É possível que apenas um dos dois TCRs diferentes participe na seleção positiva MHC-dirigida, descrita posteriormente. A regulação transcricional do gene da cadeia α ocorre de modo similar a da cadeia β. Existem promotores a 5′ de cada gene de Vα com baixo nível de atividade e que são responsáveis pelo alto nível de transcrição célula T-específica, quando aproximados de um intensificador de cadeia α localizado a 3′ do gene Cα. Rearranjos malsucedidos do gene α do TCR em ambos os cromossomos levam à falha da seleção positiva (discutida adiante). Os timócitos da linhagem da célula T $\alpha\beta$ que falham em fazer rearranjo produtivo do gene da cadeia α do TCR morrerão por apoptose.

A expressão do gene α do TCR no estágio duplo-positivo leva à formação do TCR $\alpha\beta$ completo, o qual é expresso na superfície celular associado às proteínas CD3 e ζ. A expressão coordenada dessas proteínas e a montagem de complexos de TCR intactos são requeridas para a expressão de superfície. O rearranjo do gene α do TCR resulta na deleção do *locus* do TCR localizado entre os segmentos V (comuns aos *loci* α e δ) e aos segmentos Jα (Fig. 8.6). Como resultado, essa célula T perde a capacidade de se tornar uma célula T $\gamma\delta$ e é totalmente comprometida com a linhagem de célula T $\alpha\beta$. A expressão dos genes *RAG* e a recombinação adicional do gene do TCR cessam após esse estágio da maturação.

As células duplo-positivas que são bem-sucedidas nos processos de seleção seguem adiante e amadurecem em células T CD4$^+$ ou CD8$^+$, as quais são chamadas timócitos simples-positivos. Portanto, os estágios da maturação da célula T no timo podem ser prontamente distinguidos pela expressão de CD4 e CD8 (Fig. 8.20). Essa maturação fenotípica é acompanhada do comprometimento com diferentes programas funcionais mediante ativação nos órgãos linfoides secundários. As células T CD4$^+$ e CD8$^+$ adquirem propriedades exclusivas durante sua maturação: para as células CD4$^+$, a habilidade de produzir diferentes citocinas em resposta à estimulação antigênica e de expressar moléculas efetoras (como CD40-ligante) que ativam linfócitos B, células dendríticas e macrófagos; e para as células T CD8$^+$, a habilidade de produzir moléculas que matam outras células. Os timócitos simples-positivos maduros entram na medula tímica e, então, saem do timo para povoar os tecidos linfoides periféricos.

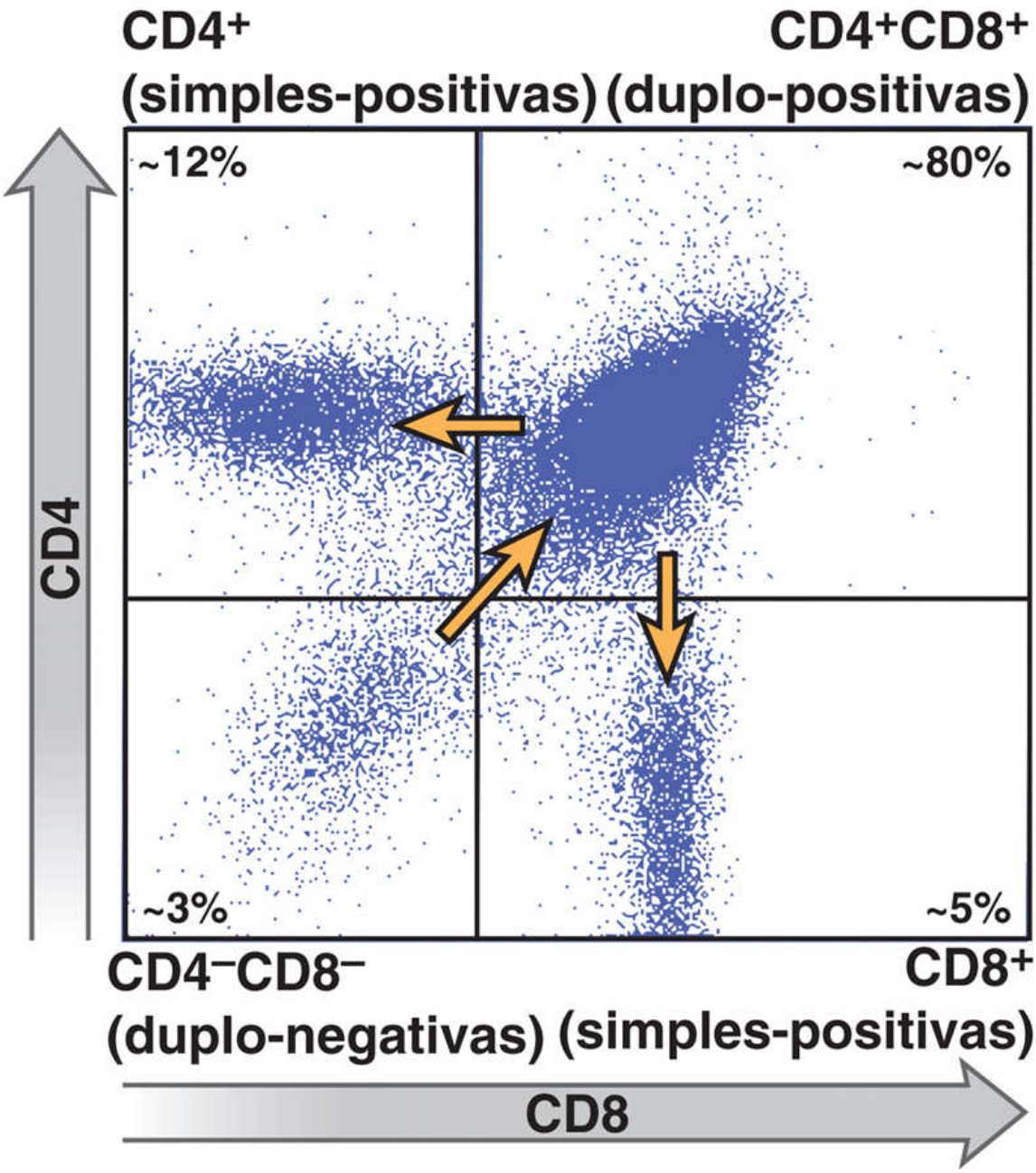


FIGURA 8.20 Expressão de CD4 e CD8 em timócitos e maturação de células T no timo.
A maturação dos timócitos pode ser seguida de alterações na expressão de correceptores CD4 e CD8. Uma análise por citometria de fluxo de duas cores dos timócitos usando anticorpos anti-CD4 e anti-CD8, cada qual marcado com um fluorocromo diferente, é ilustrada. Os percentuais com que todos os timócitos contribuíram para cada população principal são mostrados nos quatro quadrantes. A subpopulação menos madura é a de células $CD4^-$ $CD8^-$ (duplo-negativas). As setas indicam a sequência de maturação.

Processos de Seleção na Maturação de Células T αβ MHC-Restritas

A seleção de células T em desenvolvimento depende do reconhecimento do antígeno (complexos peptídeo-MHC) no timo e é responsável pela preservação de células úteis e eliminação daquelas potencialmente danosas. O repertório imaturo, ou não selecionado, de linfócitos T consiste em células cujos receptores reconhecem qualquer antígeno peptídico (próprio ou estranho) exibido por qualquer molécula de MHC (também, própria ou estranha). Em adição, teoricamente, é possível que haja expressão de receptores que não reconhecem nenhum complexo peptídeo-molécula de MHC. Em cada indivíduo, as únicas células T efetoras úteis são aquelas específicas para os peptídeos estranhos apresentados pelas moléculas de MHC do indivíduo — ou seja, as moléculas de MHC próprias. Quando os timócitos duplo-positivos expressam TCRs $\alpha\beta$ pela primeira vez, esses receptores encontram autopeptídeos (os únicos peptídeos normalmente presentes no timo) exibidos por moléculas de MHC próprias (as únicas moléculas de MHC disponíveis para exibição de peptídeos), principalmente nas células epiteliais tímicas no córtex. O resultado desse reconhecimento é determinado primariamente pela força do encontro entre TCRs e complexos autoantígeno-MHC.

Seleção Positiva de Timócitos: Desenvolvimento do Repertório de Células T Restritas ao MHC Próprio

A seleção positiva é o processo no qual os timócitos, cujos TCRs se ligam com baixa avidez (i.e., fracamente) a complexos peptídeo próprio-MHC próprio, são estimulados a sobreviverem e se diferenciarem em células T CD4$^+$ ou células T CD8$^+$ (Fig. 8.18). Os timócitos duplo-positivos são produzidos sem estimulação antigênica e começam a expressar TCRs $\alpha\beta$. No córtex tímico, essas células imaturas encontram as células epiteliais que exibem vários autopeptídeos ligados a moléculas de MHC de classes I e II. O reconhecimento fraco desses complexos autopeptídeo-MHC próprio promove a sobrevida das células T. Os timócitos cujos receptores não reconhecem moléculas de MHC próprias são deixados para morrer por uma via padrão de apoptose; esse fenômeno é chamado morte por negligência (Fig. 8.18).

Durante a transição das células duplo-positivas para simples-positivas, os timócitos cujos TCRs reconhecem o MHC de classe I próprio se tornam $CD8^+CD4^-$, enquanto as células TCRs que reconhecem MHC de classe II próprio se tornam $CD4^+CD8^-$. Sendo assim, essas células se tornam comprometidas com a linhagem CD4 ou com a linhagem CD8. Foram propostos dois modelos para explicar o processo de comprometimento com linhagem, como resultado de quais correceptores são corretamente combinados com os TCRs que reconhecem uma classe específica de moléculas de MHC. O modelo estocástico ou probabilístico sugere que o comprometimento de células T imaturas com uma linhagem depende da probabilidade ao acaso de uma célula duplo-positiva se diferenciar em uma célula T $CD4^+$ ou $CD8^+$. Nesse modelo, uma célula que reconhece o MHC de classe I próprio pode se diferenciar aleatoriamente em uma célula T $CD8^+$ (com o correceptor apropriado) e sobreviver, ou pode se diferenciar em uma célula T $CD4^+$ (com o correceptor errado) que pode falhar em receber sinais de sobrevivência. Nesse processo de diferenciação aleatória em células simples-positivas, o correceptor falharia em ser combinado ao reconhecimento das moléculas de MHC da classe correta em cerca de metade dos casos.

Uma visão mais amplamente aceita é que o processo de comprometimento com a linhagem ligado à seleção positiva é conduzido por sinais específicos que instruem a célula T a se tornar $CD4^+$ ou $CD8^+$. De acordo com esse modelo instrucional, os TCRs restritos ao MHC de classe I ou ao MHC de classe II emitem sinais diferentes que induzem ativamente a expressão do correceptor correto e desligam a expressão do outro correceptor. É sabido que as células duplo-positivas seguem para um estágio em que expressam CD4 intensamente e CD8 fracamente. Se o TCR nesta célula for restrito ao MHC de classe I, ao se deparar com a molécula de MHC de classe I e o autopeptídeo apropriados, receberá um sinal fraco em consequência dos níveis de correceptor CD8 serem baixos. Em adição, o CD8 se associa de modo mais precário com a tirosina quinase Lck, em comparação ao CD4. Esses sinais fracos ativam fatores de transcrição como Runx3, que mantém o fenótipo de célula T $CD8^+$ regulando a expressão do gene *CD8* e silenciando o gene *CD4*. Ao contrário, se o TCR na célula for restrito ao MHC de classe II, ao se deparar com o MHC de classe II, receberá um sinal mais forte porque os níveis de CD4 são altos e o CD4 se associa relativamente bem com Lck. Esses sinais mais fortes ativam o fator de transcrição GATA3, que compromete as células com o destino CD4 e induz a expressão de um repressor chamado ThPoK que, por sua vez, previne a expressão de genes definidores de linhagem das células T $CD8^+$.

Os peptídeos ligados a moléculas de MHC em células epiteliais tímicas exercem papel essencial na seleção positiva. No Capítulo 6, descrevemos como as moléculas de MHC expressas na superfície celular sempre contêm os peptídeos ligados. Esses peptídeos associados ao MHC nas células apresentadoras de antígeno tímicas exercem dois papéis na seleção positiva — primeiro, promovem expressão estável de moléculas de MHC na superfície celular; e, em segundo lugar, podem influenciar as especificidades das células T selecionadas. Também está claro, a partir de vários estudos experimentais, que alguns peptídeos são melhores do que outros na sustentação da seleção positiva, sendo que peptídeos diferentes diferem quanto aos repertórios de células T que selecionam. Esses resultados sugerem que o reconhecimento antigênico específico, e não só o reconhecimento do MHC, tem algum papel na seleção positiva. Uma consequência da seleção positiva induzida por autopeptídeo é que as células T que amadurecem têm capacidade de reconhecer autopeptídeos. No Capítulo 2, mencionamos que a sobrevivência de linfócitos *naive* antes de um encontro com antígenos estranhos requer sinais de sobrevida que aparentemente são gerados pelo reconhecimento fraco de autopeptídeos em órgãos linfoides periféricos. Os mesmos autopeptídeos mediadores da seleção positiva de timócitos duplo-positivos no timo podem estar envolvidos na manutenção de células T maduras (simples-positivas) *naive* vivas nos órgãos periféricos.

O modelo de seleção positiva baseada no reconhecimento fraco de autoantígenos levanta a seguinte questão fundamental: como a seleção positiva dirigida pelo reconhecimento fraco de autoantígenos produz um repertório de células T maduras específicas para antígenos estranhos? A provável resposta é que a seleção positiva permite que muitos clones diferentes de células T sobrevivam, e muitas dessas células T reconhecedoras de autopeptídeos com baixa afinidade felizmente irão, após a maturação, reconhecer peptídeos estranhos com afinidade suficientemente alta para serem ativadas e gerarem respostas imunes úteis.

Seleção Negativa de Timócitos: Tolerância Central

Os timócitos cujos receptores reconhecem complexos peptídeo-MHC no timo com alta avidez sofrem apoptose (chamada seleção negativa) ou se diferenciam em células T reguladoras (Fig. 8.18). Entre as células T duplo-positivas geradas no timo, algumas podem expressar TCRs que reconhecem autoantígenos com alta afinidade. Os peptídeos presentes no timo são autopeptídeos derivados de antígenos proteicos amplamente

expressos, bem como de algumas proteínas que se acredita serem restritas a tecidos particulares. (Lembre que os microrganismos que entram pelas vias comuns, i.e., epitélios, são capturados e transportados para os linfonodos e tendem a não entrar no timo.) Em células T imaturas, uma das principais consequências do reconhecimento antigênico de alta avidez é o desencadeamento de apoptose, levando à morte, ou deleção, das células. Portanto, muitos dos timócitos imaturos que expressam receptores de alta afinidade para autoantígenos no timo morrem, resultando na seleção negativa do repertório das células T. Esse processo elimina as células T autorreativas potencialmente mais danosas e é um dos mecanismos de autotolerância, garantindo que o sistema imune não responda a muitos autoantígenos. A tolerância induzida nos linfócitos imaturos pelo reconhecimento de autoantígenos nos órgãos linfoides geradores (ou centrais) também é chamada tolerância central, para contrastar com a tolerância periférica induzida em linfócitos maduros por autoantígenos nos tecidos periféricos. Discutiremos os mecanismos e a importância fisiológica da tolerância imunológica em maiores detalhes no Capítulo 15.

A deleção de células T autorreativas imaturas pode ocorrer no estágio duplo-positivo no córtex e nas células T simples-positivas recém-geradas na medula. As células apresentadoras de antígeno tímicas que medeiam a seleção negativa no estágio duplo-positivo são células epiteliais corticais tímicas (que também medeiam a seleção positiva). A seleção negativa de timócitos simples-positivos pode ser mediada por macrófagos e células dendríticas derivadas da medula óssea, que são abundantes na medula, bem como por células epiteliais medulares tímicas. As células T simples-positivas são atraídas para a medula tímica pelas quimiocinas. Na medula, as células epiteliais medulares tímicas expressam uma proteína chamada **AIRE (do inglês, *autoimune regulator*)**, que induz baixo nível de expressão de muitos antígenos normalmente expressos apenas em órgãos periféricos específicos (conhecidos como antígenos tecido-restritos). Sua expressão AIRE-dependente no timo torna esses antígenos tecido-específicos disponíveis para apresentação às células T imaturas, facilitando a deleção (seleção negativa) dessas células. Uma mutação no gene codificador de AIRE resulta em uma síndrome poliendócrina autoimune, reforçando a importância de AIRE na mediação da tolerância central aos antígenos tecido-específicos (Capítulo 15).

O mecanismo de seleção negativa no timo é a indução de morte por apoptose. Diferente do fenômeno de morte por negligência, que ocorre na ausência de seleção positiva, na seleção negativa, os sinais promotores de

morte ativa são gerados quando o TCR de timócitos imaturos se liga com alta afinidade ao antígeno. A sinalização pelo TCR pode induzir expressão de uma proteína pró-apoptótica chamada Bim, que provavelmente exerce papel importante na apoptose do timócito durante a seleção negativa (Capítulo 15). Também está claro que, embora o reconhecimento antigênico de alta afinidade pelas células T imaturas desencadeie apoptose, esse mesmo reconhecimento por linfócitos maduros, de forma conjunta com outros sinais, inicia respostas proliferativas de célula T (Capítulo 9). A base bioquímica dessa diferença fundamental nas respostas de células imaturas e maduras é desconhecida.

O reconhecimento de autoantígenos pelo timo pode gerar uma população de células T CD4⁺ reguladoras (Treg) que atuam prevenindo reações autoimunes (Capítulo 15). Não está claro quais fatores determinam a escolha entre os dois destinos alternativos das células T imaturas que reconhecem autoantígenos com alta avidez — a saber, a deleção de células T imaturas ou o desenvolvimento de células T reguladoras. Uma possibilidade é a de que sinais fracos induzam seleção positiva de timócitos, enquanto sinais fortes induzem seleção negativa e sinais intermediários induzem diferenciação em células Treg. Entretanto, como o nível de sinais é controlado e como influenciam o destino das células T em desenvolvimento ainda não está esclarecido. Embora CD28 não seja requerido para o desenvolvimento de células T $CD4^+$ e $CD8^+$, este receptor coestimulador é necessário à geração de algumas Treg no timo.

Linfócitos T γδ

Timócitos expressando TCR αβ e γδ são linhagens separadas que compartilham um precursor comum. Nos timos fetais, os primeiros rearranjos do gene do TCR envolvem os *loci* γ e δ. A recombinação dos *loci* γ e δ do TCR prossegue de maneira similar aos rearranjos gênicos de outros receptores antigênicos, embora a ordem de rearranjo pareça ser menos rígida do que em outros *loci*. Em uma célula T duplo-negativa em desenvolvimento, o rearranjo dos *loci* β, γ ou δ do TCR é inicialmente possível. Se uma célula for bem-sucedida em rearranjar produtivamente seus loci de TCR γ e também δ antes de fazer um rearranjo produtivo de TCR β, será selecionada para a linhagem de célula T γδ. Isso acontece em cerca de 10% as células T duplo-negativas em desenvolvimento. Em cerca de 90% dos casos, um rearranjo produtivo do gene de β do TCR ocorre primeiro. Nessa situação, a sinalização pré- -TCR seleciona essas células para amadurecerem na linhagem de célula T αβ e a eventual deleção do

TCR δ quando o TCR α é rearranjado (o *locus* do TCR δ está embutido no *locus* do TCR α) resulta no comprometimento irreversível com a linhagem $\alpha\beta$.

A diversidade do repertório de célula T $\gamma\delta$ teoricamente é ainda maior do que a do repertorio de célula T $\alpha\beta$, em parte porque as sequências sinalizadoras de recombinação heptâmero-nonâmero adjacentes aos segmentos D permitem a junção D-para-D. Paradoxalmente, contudo, a diversidade real dos TCRs $\gamma\delta$ expressos é limitada porque apenas alguns dos segmentos V, D e J disponíveis são usados em células T $\gamma\delta$ maduras, por razões desconhecidas. Essa diversidade limitada é similar à diversidade limitada da subpopulação B-1 de linfócito B e está de acordo com o conceito de que as células T $\gamma\delta$ servem de defesa inicial contra um número restrito de microrganismos comumente encontrados nas barreiras epiteliais. As funções das células T $\gamma\delta$ são descritas no Capítulo 10.

Outra pequena população, chamada células NKT, também se desenvolve no timo; essas células também são descritas no Capítulo 10.

Resumo

- Os linfócitos B e T surgem a partir de um precursor comum derivado da medula óssea, que se torna comprometido com a linhagem de linfócitos. A maturação inicial é caracterizada pela proliferação celular induzida por citocinas, principalmente IL-7.
- Os fatores de transcrição induzem a expressão de genes linhagem-específicos e abrem *loci* gênicos de receptor antigênico específicos.
- A expressão inicial de pré-receptores antigênicos e a subsequente expressão de receptores antigênicos é essencial para a sobrevivência, expansão e maturação de linfócitos em desenvolvimento, bem como para os processos de seleção que levam a um repertório diversificado de especificidades antigênicas úteis.
- Os receptores antigênicos de células B e T são codificados por um número limitado de segmentos gênicos espacialmente segregados nos *loci* germinativos, mas que são somaticamente recombinados nas células B e T em desenvolvimento.
- *Loci* separados codificam a cadeia pesada de Ig, cadeia leve κ de Ig, cadeia leve λ de Ig, cadeia β do TCR, cadeias α e δ do TCR, e cadeia γ do TCR. Estes *loci* contêm V, J e apenas nos *loci* de cadeia pesada de Ig, β e δ do TCR, segmentos de gene D. O rearranjo somático de ambos os *loci*, de Ig e do TCR, envolve a junção dos segmentos D e J nos *loci* contendo segmentos D, seguida pela junção do segmento V aos segmentos DJ recombinados nestes *loci* ou a junção V-para-J direta nos outros *loci*.
- Esse processo de recombinação gênica somática é mediado por um complexo de enzima recombinase constituído pelos componentes linfócito-específicos Rag-1 e Rag-2.
- A diversidade dos repertórios de anticorpo e do TCR é gerada por associações combinatórias de múltiplos segmentos de genes V, D e J da linhagem germinativa, e a diversidade juncional gerada pela adição ou remoção de nucleotídeos aleatórios nos sítios de recombinação. Esses mecanismos geram a maior parte da diversidade nas junções dos segmentos que formam as terceiras regiões hipervariáveis de polipeptídeos de anticorpos e do TCR.
- A maturação da célula B ocorre em estágios caracterizados por diferentes padrões de rearranjo e expressão dos genes de Ig. Nos

primeiros precursores da célula B, chamados células pró-B, os genes de Ig estão inicialmente na configuração da linhagem germinativa, sendo que o rearranjo D para J ocorre no *locus* da cadeia pesada de Ig.

- Na transição pró-B para pré-B, a recombinação V-D-J é completada no *locus* da cadeia H de Ig, enquanto o éxon VDJ é emendado aos éxons da região C μ do RNA da cadeia pesada para gerar um mRNA maduro que é traduzido na proteína da cadeia pesada μ. O pré-BCR é formado pelo pareamento da cadeia μ com cadeias leves substitutas e pela associação com as moléculas sinalizadoras Ig*α* e Igβ. Esse receptor fornece sinais de sobrevivência e proliferação, bem como sinais que inibem o rearranjo no outro alelo da cadeia pesada (exclusão alélica).
- Conforme as células se diferenciam em células B maduras, a recombinação V-J ocorre inicialmente no *locus* κ de Ig, e as proteínas de cadeia leve são expressas. As proteínas de cadeias pesada e leve são então montadas em moléculas de IgM intactas e expressas na superfície celular. As células B imaturas saem da medula óssea e povoam os tecidos linfoides periféricos, onde completam sua maturação. No estágio de célula B madura, a síntese das cadeias pesadas μ e δ ocorrem em paralelo, mediadas pelo *splicing* alternativo dos transcritos primários de RNA de cadeia pesada, e a IgM e IgD de membrana são expressas.
- Durante a maturação do linfócito B, as células B imaturas que expressam receptores antigênicos de alta afinidade para autoantígenos presentes na medula óssea são induzidas a editar seus genes de receptor ou, alternativamente, essas células são eliminadas.
- A maturação da célula T no timo progride em estágios que são distinguidos pelo padrão de expressão de genes de receptor antigênico e moléculas correceptoras CD4 e CD8. Os primeiros imigrantes da linhagem T para o timo não expressam TCRs nem moléculas CD4 ou CD8. Os timócitos em desenvolvimento inicialmente povoam o córtex externo, onde proliferam e rearranjam os genes do TCR, bem como expressam moléculas de CD3, TCR, CD4 e CD8.
- No estágio pré-T, os timócitos permanecem duplo-negativos, porém a recombinação V-D-J é completada no *locus* da cadeia β do TCR e são produzidos os polipeptídeos da cadeia β do TCR. A cadeia β do TCR se associa à proteína pré-T*α* invariável para

formar um pré-TCR, o qual transduz sinais que inibem o rearranjo no outro alelo da cadeia β (exclusão alélica) e promove expressão dupla de CD4 e CD8. No estágio $CD4^+CD8^+$ (duplo-positivo), ocorre recombinação V-J no *locus* α do TCR; são produzidos polipeptídeos de cadeia α; e baixos níveis de TCR são expressos na superfície celular.

- A seleção positiva de timócitos com TCR αβ $CD4^+CD8^+$ requer reconhecimento com baixa avidez de complexos peptídeo-MHC. Conforme amadurecem, os timócitos com TCR αβ se movem para dentro da medula e se tornam $CD4^+CD8^-$ ou $CD8^+CD4^-$. O comprometimento com uma linhagem que acompanha a seleção positiva resulta na combinação de TCRs que reconhecem MHC de classe I com expressão de CD8 e silenciamento de CD4; TCRs que reconhecem moléculas de MHC de classe II são combinadas à expressão de CD4 e à perda da expressão de CD8.
- A seleção negativa de timócitos duplo-positivos com TCR αβ $CD4^+CD8^+$ ocorre quando essas células reconhecem, com alta avidez, antígenos presentes no timo. Esse processo é responsável pela tolerância a muitos autoantígenos.

Referências Sugeridas

Desenvolvimento Inicial da Célula B e Recombinação V(D)J

Clark MR, Mandal M, Ochiai K, Singh H. Orchestrating B cell lymphopoiesis through interplay of IL-7 receptor and pre-B cell receptor signalling. *Nat Rev Immunol*. 2014;14:69–80.

Cobaleda C, Busslinger M. Developmental plasticity of lymphocytes. *Curr Opin Immunol*. 2008;20:139–148.

Jenkinson EJ, Jenkinson WE, Rossi SW, Anderson G. The thymus and T-cell commitment: the right niche for Notch? *Nat Rev Immunol*. 2006;6:551–555.

Johnson K, Reddy KL, Singh H. Molecular pathways and mechanisms regulating the recombination of immunoglobulin genes during B-lymphocyte development. *Adv Exp Med Biol*. 2009;650:133–147.

Jung D, Giallourakis C, Mostoslavsky R, Alt FW. Mechanism and control of V(D)J recombination at the immunoglobulin heavy chain locus. *Annu Rev Immunol*. 2006;24:541–570.

Nemazee D. Receptor editing in lymphocyte development and central tolerance. *Nat Rev Immunol*. 2006;6:728–740.

Teng G, Schatz DG. Regulation and evolution of the RAG recombinase. *Adv Immunol*. 2015;128:1–39.

Desenvolvimento da Célula T

Boehm T, Swann JB. Thymus involution and regeneration: two sides of the same coin? *Nat Rev Immunol*. 2013;13:831–838.

Carpenter AC, Bosselut R. Decision checkpoints in the thymus. *Nat Immunol*. 2010;11:666–673.

De Obaldia ME, Bhandoola A. Transcriptional regulation of innate and adaptive lymphocyte lineages. *Annu Rev Immunol*. 2015;33:607–642.

Godfrey DI, Stankovic S, Baxter AG. Raising the NKT cell family. *Nat Immunol*. 2010;11:197–206.

He X, Park K, Kappes DJ. The role of ThPOK in control of CD4/CD8 lineage commitment. *Annu Rev Immunol*. 2010;28:295–320.

Kurd N, Robey EA. T-cell selection in the thymus: a spatial and temporal perspective. *Immunol Rev*. 2016;271:114–126.

Maillard I, Fang T, Pear WS. Regulation of lymphoid development, differentiation, and function by the Notch pathway. *Annu Rev Immunol*. 2005;23:945–974.

Rodewald HR. Thymus organogenesis. *Annu Rev Immunol*. 2008;26:355–388.

Rothenberg EV, Kueh HY, Yui MA, Zhang JA. Hematopoiesis and T-cell specification as a model developmental system. *Immunol Rev*. 2016;271:72–97.

Singer A, Adoro S, Park JH. Lineage fate and intense debate: myths, models and mechanisms of CD4- versus CD8-lineage choice. *Nat Rev Immunol*. 2008;8:788–801.

Stritesky GL, Jameson SC, Hogquist KA. Selection of self-reactive T cells in the thymus. *Annu Rev Immunol*. 2012;30:95–114.

Taniuchi I, Ellmeier W. Transcriptional and epigenetic regulation of CD4/CD8 lineage choice. *Adv Immunol*. 2011;110:71–110.

MicroRNAs e Desenvolvimento do Linfócito

Mehta A, Baltimore D. MicroRNAs as regulatory elements in immune system logic. *Nat Rev Immunol*. 2016;16:279–294.

Xiao C, Rajewsky K. MicroRNA control in the immune system: basic principles. *Cell*. 2009;136:26–36.

CAPÍTULO 9

Ativação dos Linfócitos T

VISÃO GERAL DA ATIVAÇÃO DOS LINFÓCITOS T

SINAIS PARA ATIVAÇÃO DOS LINFÓCITOS T

- Reconhecimento do Antígeno
- Papel da Coestimulação na Ativação das Células T

RESPOSTAS FUNCIONAIS DOS LINFÓCITOS T

- Alterações nas Moléculas de Superfície durante a Ativação das Células T
- Citocinas nas Respostas Imunes Adaptativas
- Expansão Clonal das Células T
- Diferenciação das Células T Ativadas em Células Efetoras
- Desenvolvimento e Propriedades das Células T de Memória

DECLÍNIO DAS RESPOSTAS DAS CÉLULAS T

RESUMO

A partir de um pequeno conjunto (*pool*) de linfócitos *naive* específicos para um antígeno, o processo de ativação das células T gera um grande número de células efetoras com a mesma especificidade, que atuam para eliminar aquele antígeno. Nesse processo, também é gerada uma população de células de memória de longa vida, capazes de reagir rapidamente contra o antígeno caso ele seja reintroduzido. Uma característica fundamental da resposta das células T, como todas as respostas imunes adaptativas, é sua alta especificidade pelo antígeno que elicita a resposta. Tanto a ativação inicial de células T *naive* quanto as fases efetoras da resposta imune adaptativa mediada por células T são desencadeadas pelo reconhecimento

do antígeno via receptores antigênicos dos linfócitos T. No Capítulo 6, descrevemos a especificidade de células T para fragmentos peptídicos derivados de antígenos proteicos, os quais se ligam e são apresentados pelas moléculas do complexo principal de histocompatibilidade (MHC, do inglês, *major histocompatibility complex*). No Capítulo 7, descrevemos os receptores antigênicos e outras moléculas das células T envolvidas na ativação das células pelos antígenos e os sinais bioquímicos iniciados por esses receptores. Neste capítulo, descreveremos a biologia da ativação das células T. Iniciaremos com uma breve visão geral da ativação das células T, discutiremos o papel dos coestimuladores e outros sinais fornecidos pelas células apresentadoras de antígenos (APCs, do inglês, *antigen presenting cells*) na ativação das células T, e descreveremos a sequência de proliferação e diferenciação que ocorre quando células T $CD4^+$ e $CD8^+$ reconhecem antígenos estranhos. A geração e as funções das células T $CD4^+$ efetoras e das células T $CD8^+$ efetoras são descritas nos Capítulos 10 e 11, respectivamente. Assim, os Capítulos 9, 10 e 11, conjuntamente, abordam a biologia da ativação dos linfócitos T e suas funções na imunidade mediada por células.

Visão Geral da Ativação dos Linfócitos T

A ativação inicial de linfócitos T* naive *ocorre principalmente em órgãos linfoides periféricos (secundários), nos quais essas células normalmente circulam e onde devem encontrar os antígenos apresentados por células dendríticas maduras (Fig. 9.1). Clones de linfócitos T, cada um com uma especificidade diferente, são gerados no timo antes da exposição ao antígeno. Os linfócitos T *naive*, os quais não responderam previamente a antígenos, circulam por todo o corpo em estado de repouso e somente adquirem poderosas capacidades funcionais após sua ativação. Essa ativação dos linfócitos T *naive* ocorre em órgãos linfoides especializados, linfonodos, baço e tecidos linfoides de mucosa, onde os linfócitos *naive* e as APCs se encontram (Capítulos 2 e 6).

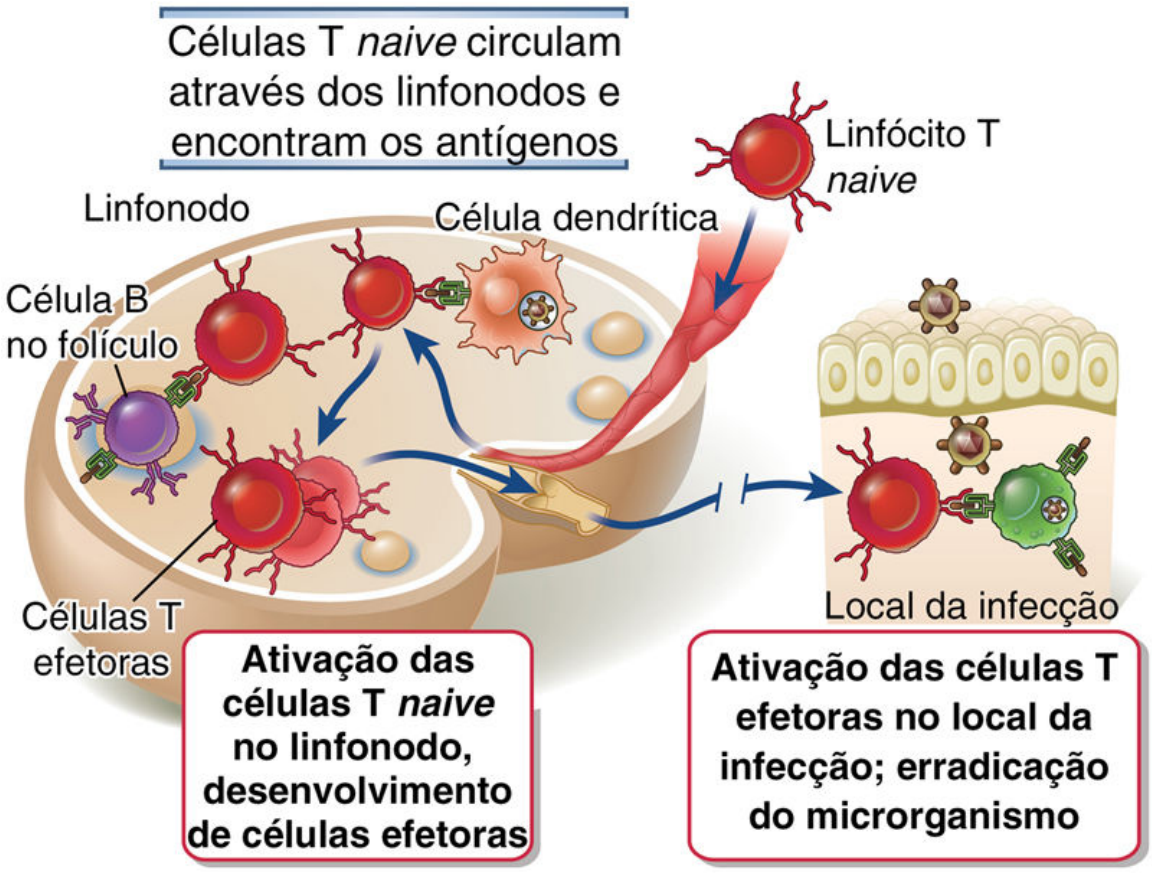


FIGURA 9.1 Ativação de células T *naive* e efetoras pelo antígeno.
Os antígenos transportados pelas células dendríticas para os linfonodos são reconhecidos pelos linfócitos T *naive* que recirculam através desses linfonodos. As células T ativadas se diferenciam em células efetoras, as quais podem permanecer nos órgãos linfoides para auxiliar os linfócitos B ou migrar para os locais de infecção, onde as células efetoras são novamente ativadas por antígenos e executam suas várias funções, como a ativação de macrófagos.

Os linfócitos T* naive *se movem no interior dos órgãos linfoides, interagindo transientemente com muitas células dendríticas e parando de se mover quando encontram o antígeno para o qual expressam receptores específicos. As células dendríticas (DCs, do inglês, *dendritic cells*) nos órgãos linfoides podem apresentar vários antígenos diferentes simultaneamente. As células T estão em constante movimento, guiado principalmente pela rede reticular de fibroblastos, um substrato-matriz produzido por células reticulares fibroblásticas na zona de células T dos órgãos linfoides (Capítulo 2). O reconhecimento antigênico resulta na geração de sinais bioquímicos que levam a uma rápida paralização das células T. Esse processo estabiliza o contato entre as células T e as APCs

relevantes expressando antígeno, permitindo que o programa de ativação da célula T seja iniciado.

O reconhecimento do antígeno, juntamente com outros estímulos de ativação, induz várias respostas biológicas nas células T: secreção de citocinas; proliferação, levando ao aumento no número de células dos clones antígeno-específicos (conhecido como expansão clonal); e diferenciação de células* naive *em linfócitos efetores e de memória (Fig. 9.2). Além disso, o processo de ativação das células T está associado a mudanças na expressão de numerosas moléculas de superfície, muitas das quais exercem papéis importantes na indução e regulação das respostas. As APCs não apenas expõem os antígenos, mas também proveem o estímulo que guia a magnitude e a natureza da resposta de células T. Esses estímulos incluem moléculas de superfície e citocinas secretadas. Os papéis das APCs na instrução de como as células T respondem são discutidos adiante, neste capítulo e no Capítulo 10.

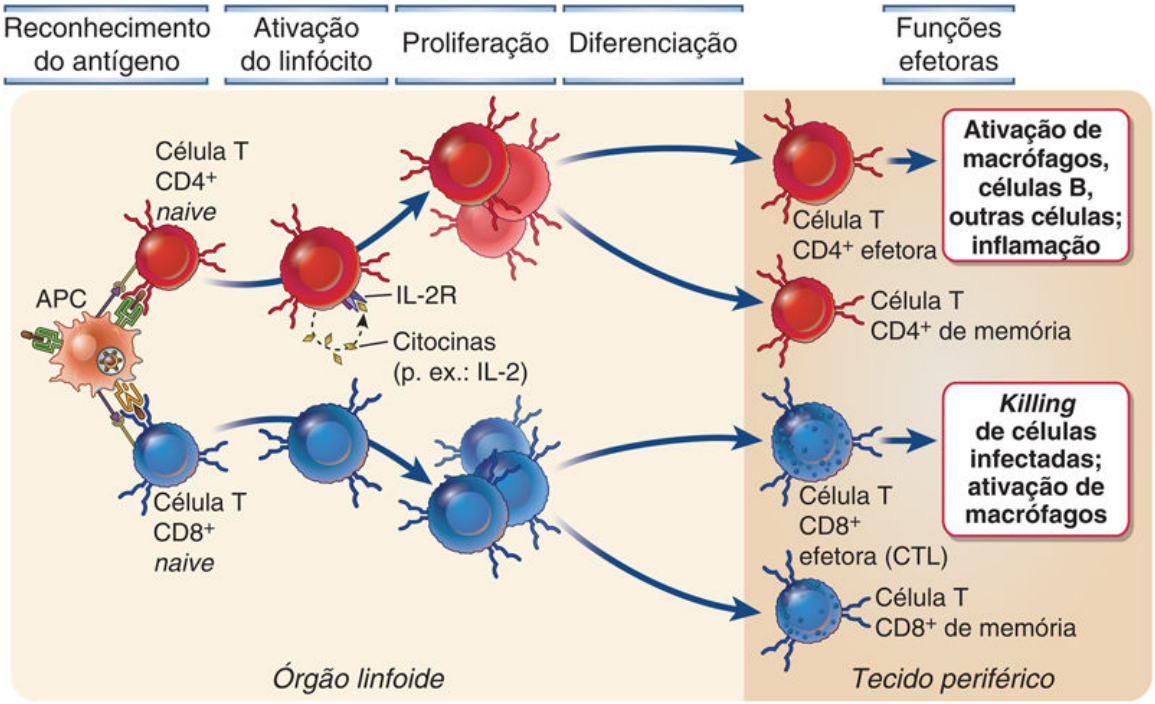


FIGURA 9.2 Sequência de eventos nas respostas de células T. O reconhecimento do antígeno pelas células T induz a secreção de citocinas (p. ex.: IL-2), particularmente em células T $CD4^+$, expansão clonal como resultado da proliferação celular, e diferenciação de células T em células efetoras ou de memória. Na fase efetora da resposta, as células T $CD4^+$ efetoras respondem ao antígeno produzindo citocinas com várias atividades, como o recrutamento e a ativação de leucócitos e ativação de linfócitos B, enquanto os CTLs $CD8^+$ respondem destruindo outras células e secretando citocinas inflamatórias.

A proliferação e diferenciação das células T são reguladas por diversos mecanismos de *feedback*. Por exemplo, células T ativadas liberam sinais de volta para as APCs, aumentando ainda mais sua capacidade de ativar as células T. Ao mesmo tempo, algumas moléculas de superfície expressas em células T ativadas, bem como as citocinas secretadas por essas células, inibem a ativação adicional, e esses mecanismos de *feedback* negativo servem para estabelecer limites seguros para a resposta.

As células T efetoras reconhecem antígenos em órgãos linfoides ou em tecidos não linfoides periféricos e são ativadas para executar funções que são responsáveis pela eliminação de microrganismos e, em estados de doença, pelo dano tecidual. Enquanto as células *naive* são ativadas principalmente nos órgãos linfoides secundários, as células efetoras diferenciadas podem responder aos antígenos e exercer suas funções em qualquer tecido (Fig. 9.1). O processo de diferenciação de células *naive*

para células efetoras confere às células a capacidade de realizar funções especializadas e a habilidade de migrar para qualquer sítio de infecção ou inflamação. Nesses locais, as células efetoras encontram novamente o antígeno para o qual são específicas e respondem de maneira a eliminar a fonte do antígeno. As células T efetoras da linhagem $CD4^+$ secretam citocinas e expressam moléculas de superfície que podem ativar outras células imunes. Essas células T efetoras são classificadas em subpopulações com base em seus perfis de citocinas e funções (Capítulo 10). Algumas células T efetoras $CD4^+$ ativam macrófagos para destruir microrganismos fagocitados; outras secretam citocinas que recrutam diferentes tipos de leucócitos, tais como eosinófilos e neutrófilos, que destroem diferentes tipos de patógenos; e outras ainda permanecem nos órgãos linfoides e ajudam as células B a se diferenciarem em plasmócitos secretores de anticorpos. O linfócitos T citotóxicos (CLTs, do inglês, *cytotoxic T lymphocytes*), as células efetoras da linhagem $CD8^+$, destroem células infectadas e células tumorais, e também secretam citocinas que ativam macrófagos e induzem à inflamação.

As células T de memória geradas pela ativação de células T são células de vida longa com maior capacidade de reagir contra o antígeno. Essas células estão presentes no *pool* de linfócitos circulantes e são abundantes em tecidos de mucosa e na pele, bem como em órgãos linfoides. Com o declínio da resposta de células T, há muito mais células de memória do clone correspondente do que haviam de células T *naive* antes da resposta. Essas células de memória respondem rapidamente após encontros subsequentes com o antígeno e geram novas células efetoras que o eliminam.

As respostas das células T diminuem depois que o antígeno é eliminado. Esse processo de contração é importante para que o sistema imune retorne a um estado de equilíbrio ou homeostase. Isso ocorre principalmente porque a maioria das células T efetoras ativadas por antígeno morre por apoptose. Uma razão para isso é que, conforme o antígeno é eliminado, os linfócitos são privados dos estímulos de sobrevivência que normalmente são fornecidos pelo antígeno e por coestimuladores e citocinas produzidos durante as reações inflamatórias ao antígeno. Além disso, mecanismos de inibição ativados pelo reconhecimento antigênico atuam para controlar a magnitude e duração da resposta.

Com essa visão geral, prosseguiremos com uma discussão dos sinais necessários para a ativação das células T e dos passos comuns às células T $CD4^+$ e $CD8^+$. Concluiremos com uma discussão sobre as células de memória e o declínio das respostas imunes.

Sinais para Ativação dos Linfócitos T

A proliferação dos linfócitos T e sua diferenciação em células efetoras e de memória requerem reconhecimento do antígeno, coestimulação e citocinas. Nesta seção, faremos um resumo da natureza dos antígenos reconhecidos pelas células T e discutiremos os coestimuladores específicos e seus receptores que contribuem para a ativação das células T. As citocinas serão discutidas mais adiante, neste capítulo e no Capítulo 10.

Reconhecimento do Antígeno

O antígeno é o primeiro sinal necessário para a ativação dos linfócitos, garantindo que a resposta imune resultante seja antígeno-específica. Uma vez que reconhecem os complexos peptídeos-MHC exibidos pelas APCs, os linfócitos T $CD4^+$ e $CD8^+$ respondem apenas aos antígenos proteicos, fonte natural de peptídeos, ou às substâncias químicas que se ligam e modificam proteínas. Além do reconhecimento pelo receptor da célula T (TCR, do inglês, *T cell receptor*) de peptídeos exibidos por moléculas do MHC, várias outras proteínas da superfície da célula T participam do processo de ativação (Fig. 7.9). Estas incluem moléculas de adesão, as quais estabilizam a interação das células T com as APCs; correceptores, os quais liberam sinais bioquímicos que atuam em conjunto com os sinais do complexo TCR; e coestimuladores. Os sinais bioquímicos transmitidos pelos receptores antigênicos e correceptores são discutidos no Capítulo 7.

A ativação das células T* naive *requer o reconhecimento do antígeno apresentado pelas DCs. Esse papel crucial das DCs na iniciação das respostas de linfócitos T se dá porque essas APCs estão na localização apropriada para interagir com as células T *naive* (Capítulo 6). Além disso, a ativação das células T *naive* depende de sinais como os coestimuladores (discutidos adiante) que são altamente expressos pelas DCs. Antígenos proteicos que atravessam a barreira epitelial ou originam-se nos tecidos são capturados pelas DCs e transportados aos linfonodos. Antígenos que alcançam a circulação podem ser capturados pelas DCs no baço. As DCs com antígenos capturados migram para as zonas de células T dos linfonodos drenantes. Conforme discutido no Capítulo 6, tanto as células T *naive* quanto as DCs maduras são atraídas para as zonas de célula T nos órgãos linfoides secundários pelas quimiocinas aí produzidas, as quais se ligam ao receptor de quimiocina CCR7 nas células. No momento em que as DCs maduras alcançam as áreas de células T, exibem peptídeos

antigênicos em moléculas do MHC e também expressam coestimuladores. As DCs apresentam às células T $CD4^+$ peptídeos derivados de antígenos proteicos endocitados, principamente em associação com moléculas do MHC classe II, e às células T $CD8^+$ peptídeos derivados de proteínas citosólicas e nucleares exibidos por moléculas do MHC classe I (Capítulo 6).

As células T efetoras diferenciadas podem responder a antígenos apresentados por outras células que não as DCs. Nas respostas imunes humorais, as células B apresentam antígenos para as células T auxiliares e são as receptoras de sinais de ativação por parte das células auxiliares (Capítulo 12); nas respostas imunes mediadas por células, os macrófagos apresentam antígenos e respondem às células T $CD4^+$ (Capítulo 10); e praticamente qualquer célula nucleada pode apresentar antígenos e ser destruída pelos CTLs $CD8^+$ (Capítulo 11).

Papel da Coestimulação na Ativação das Células T

A proliferação e diferenciação das células T* naive *requerem sinais fornecidos por moléculas das APCs, denominadas coestimuladores, além dos sinais induzidos pelos antígenos (Fig. 9.3). A necessidade de sinais coestimuladores foi primeiramente sugerida pela descoberta experimental de que a sinalização apenas pelo receptor antigênico da célula T (p. ex.: induzida por anticorpos anti-CD3 que causam ligação cruzada dos complexos TCR-CD3, mimetizando o antígeno), resultaram respostas de menor intensidade do que aquelas observadas com antígenos apresentados por APCs ativadas. Esse resultado indicou que as APCs expressam moléculas que atuam conjuntamente com o antígeno para induzir a ativação da célula T. Essas moléculas foram chamadas coestimuladores, e o segundo sinal para a ativação da célula T foi denominado **coestimulação**, sendo o antígeno o primeiro sinal. Na ausência da coestimulação, as células T que encontram antígenos falham ao responder ou entram em um estado prolongado de não responsividade (Capítulo 15).

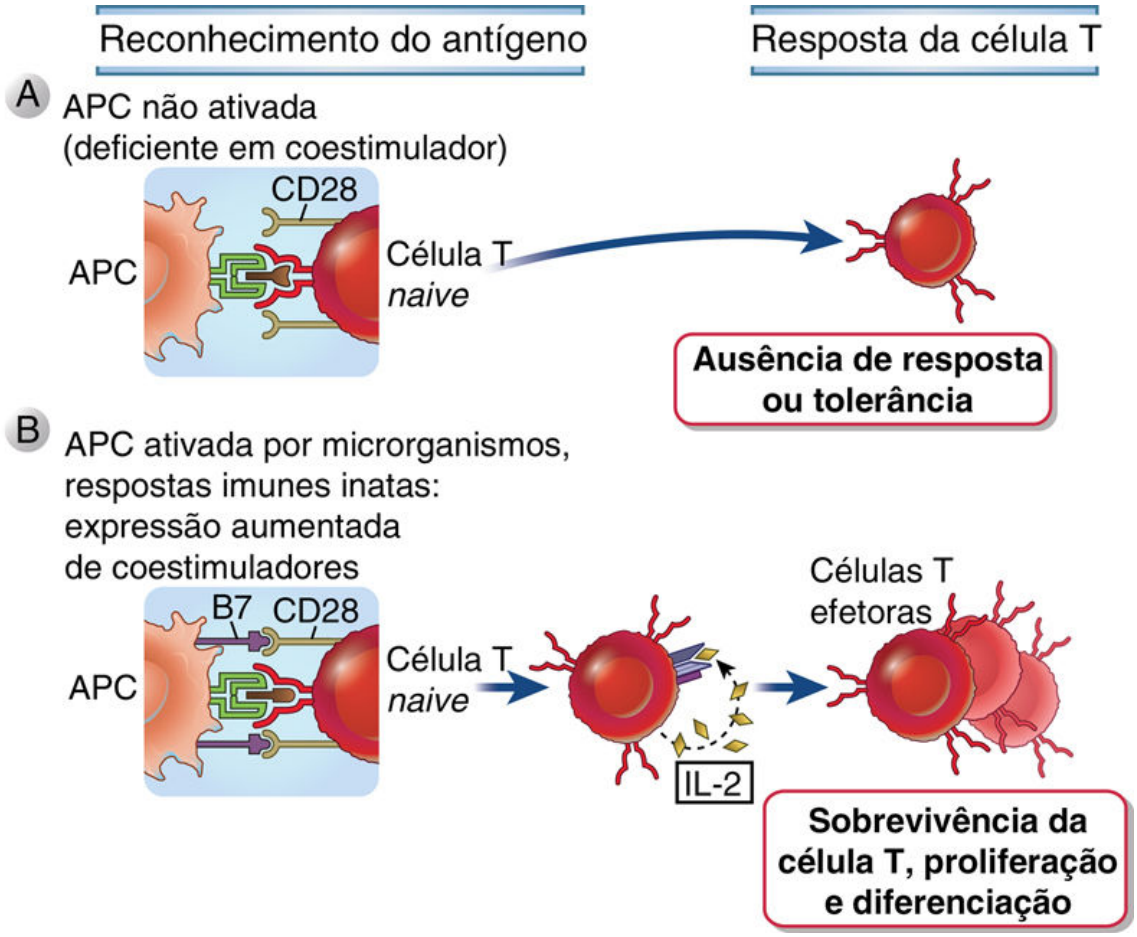


FIGURA 9.3 Funções dos coestimuladores na ativação das células T.
A, As APCs em repouso (normalmente células dendríticas apresentando autoantígenos) expressam poucos ou nenhum dos coestimuladores e não ativam células T *naive*. (O reconhecimento do antígeno sem a coestimulação pode tornar as células T não responsivas [tolerantes]; discutiremos esse fenômeno no Capítulo 15.) **B,** Microrganismos e citocinas produzidas durante as respostas imunes inatas ativam as APCs a expressarem coestimuladores, tais como as moléculas B7. As APCs (geralmente apresentando antígenos microbianos) tornam-se então capazes de ativar as células T *naive*. As APCs ativadas também produzem citocinas, tais como a IL-12, que estimula a diferenciação de células T *naive* em células efetoras.

A Família de Coestimuladores B7:CD28

A via de coestimulação mais bem caracterizada na ativação das células T envolve o CD28, receptor de superfície da célula T, que se liga às moléculas

coestimuladoras B7-1 (CD80) e B7-2 (CD86), expressas na superfície de APCs ativadas. O CD28 foi descoberto quando anticorpos estimuladores (agonistas) contra moléculas de superfície de células T humanas foram triados por sua capacidade de ampliar as respostas das células T quando adicionados conjuntamente a um anticorpo ativador anti-CD3. Logo em seguida, foram identificados os ligantes de CD28, denominados B7, e posteriormente revelados como sendo duas proteínas homólogas, chamadas B7-1 (CD80) e B7-2 (CD86), em geral coletivamente chamados B7. O papel essencial de CD28 e B7 na ativação da célula T foi estabelecido não apenas por experimentos com anticorpos de ligação cruzada, mas também pela imunodeficiência de células T causada pelo *knockout* de genes que codificam essas proteínas em camundongos, e pela habilidade de agentes que se ligam e bloqueiam moléculas B7 de inibir as respostas de células T em animais experimentais e em humanos. O desenvolvimento de agentes terapêuticos com base nesses princípios é descrito adiante.

As moléculas B7-1 e B7-2 são glicoproteínas integrais de membrana de cadeia única, estruturalmente semelhantes, cada uma contendo dois domínios extracelulares do tipo imunoglobulina (Ig). O CD28 é um homodímero ligado por ponte dissulfeto, e cada subunidade tem um único domínio de Ig extracelular. Sua porção citoplasmática contém vários resíduos de tirosina e prolina que estão envolvidos na ligação de proteínas adaptadoras e de sinalização, e na liberação de sinais de ativação (discutidos adiante). O CD28 é expresso em mais de 90% das células T $CD4^+$ e em 50% das células T $CD8^+$ em humanos (e em todas as células T *naive* em camundongos).

A expressão de coestimuladores B7 é aumentada por produtos microbianos e durante as respostas imunes inatas, e garante que os linfócitos T sejam ativados apenas quando necessário. As moléculas B7 são expressas principalmente nas APCs, incluindo DCs, macrófagos e linfócitos B. Elas são expressas em níveis baixos nas APCs em repouso e são induzidas por vários estímulos, incluindo produtos microbianos que se ligam a receptores do tipo *Toll* e citocinas como interferon-γ (IFN-γ), produzidos durante as reações imunes inatas a microrganismos. A indução de coestimuladores por microrganismos e pelas citocinas da imunidade inata promove respostas das células T a antígenos microbianos. Isso ilustra o papel das respostas imunes inatas na amplificação da imunidade adaptativa (Capítulo 4). Adicionalmente, as próprias células T $CD4^+$ ativadas aumentam a expressão dos coestimuladores B7 nas APCs por uma via de sinalização dependente de CD40, descrita adiante, provendo uma alça de *feedback* positivo que serve para amplificar as

respostas das células T. De todas as potenciais APCs, as DCs maduras expressam os maiores níveis de coestimuladores e, como resultado, são as mais potentes estimuladoras de células T *naive*.

No Capítulo 6, mencionamos o papel essencial dos **adjuvantes** na indução das respostas primárias de células T a antígenos proteicos, tais como as vacinas. Muitos adjuvantes são produtos de microrganismos ou mimetizam moléculas produzidas por microrganismos e por células necróticas, e assim elicitam respostas imunes inatas. Uma de suas funções mais importantes na ativação da célula T é estimular a expressão de coestimuladores nas APCs.

Inativadas ou em repouso, as APCs nos tecidos normais são capazes de apresentar autoantígenos para as células T, mas como essas APCs teciduais expressam apenas níveis baixos de coestimuladores, as células T potencialmente autorreativas que "percebem" os antígenos próprios não são ativadas e podem se tornar permanentemente irresponsivas (Capítulo 15). Células T reguladoras, as quais são importantes para a tolerância a autoantígenos (Capítulo 15), são também dependentes da coestimulação mediada por B7:CD28 para sua geração e manutenção. É possível que os baixos níveis dos coestimuladores B7 expressos constitutivamente pelas APCs em repouso atuem em conjunto com os autoantígenos exibidos por essas APCs, para a manutenção das células T reguladoras.

Os sinais de CD28 atuam em cooperação com o reconhecimento do antígeno para promover a sobrevivência, proliferação e diferenciação das células T antígeno-específicas. A sinalização coestimuladora via CD28 amplifica as vias de sinalização que também são induzidas *downstream* ao TCR (Capítulo 7) e devem desencadear sinais adicionais que cooperam com sinais induzidos pelo TCR (Fig. 9.4). A quinase PI3 é recrutada para a cauda citoplasmática de CD28, e isso, por sua vez, ativa a quinase pró-sobrevivência Akt *downstream*, bem como Itk e PLCγ, que podem desencadear a sinalização de cálcio. O CD28 também pode contribuir para a ativação da MAP quinase JNK pela via Rac de pequena proteína G e amplificar a ativação da via do NF-κB. Os resultados líquidos dessas vias de sinalização em células T são a expressão aumentada de proteínas antiapoptóticas, como Bcl-2 e Bcl-X_L, as quais promovem sobrevivência celular; aumento da atividade metabólica; amplificação da proliferação; produção de citocinas como IL-2; e diferenciação de células T *naive* em células efetoras e de memória. As células T efetoras e de memória previamente ativadas são menos dependentes de coestimulação pela via do B7:CD28 do que as células *naive*. Essa propriedade de células efetoras e

de memória permite que respondam a antígenos apresentados por várias APCs que podem residir em tecidos não linfoides e expressar níveis baixos ou ausentes de B7. Por exemplo, a diferenciação das células T $CD8^+$ em CTLs efetores requer coestimulação, mas CTLs efetores podem destruir outras células que não expressam coestimuladores.

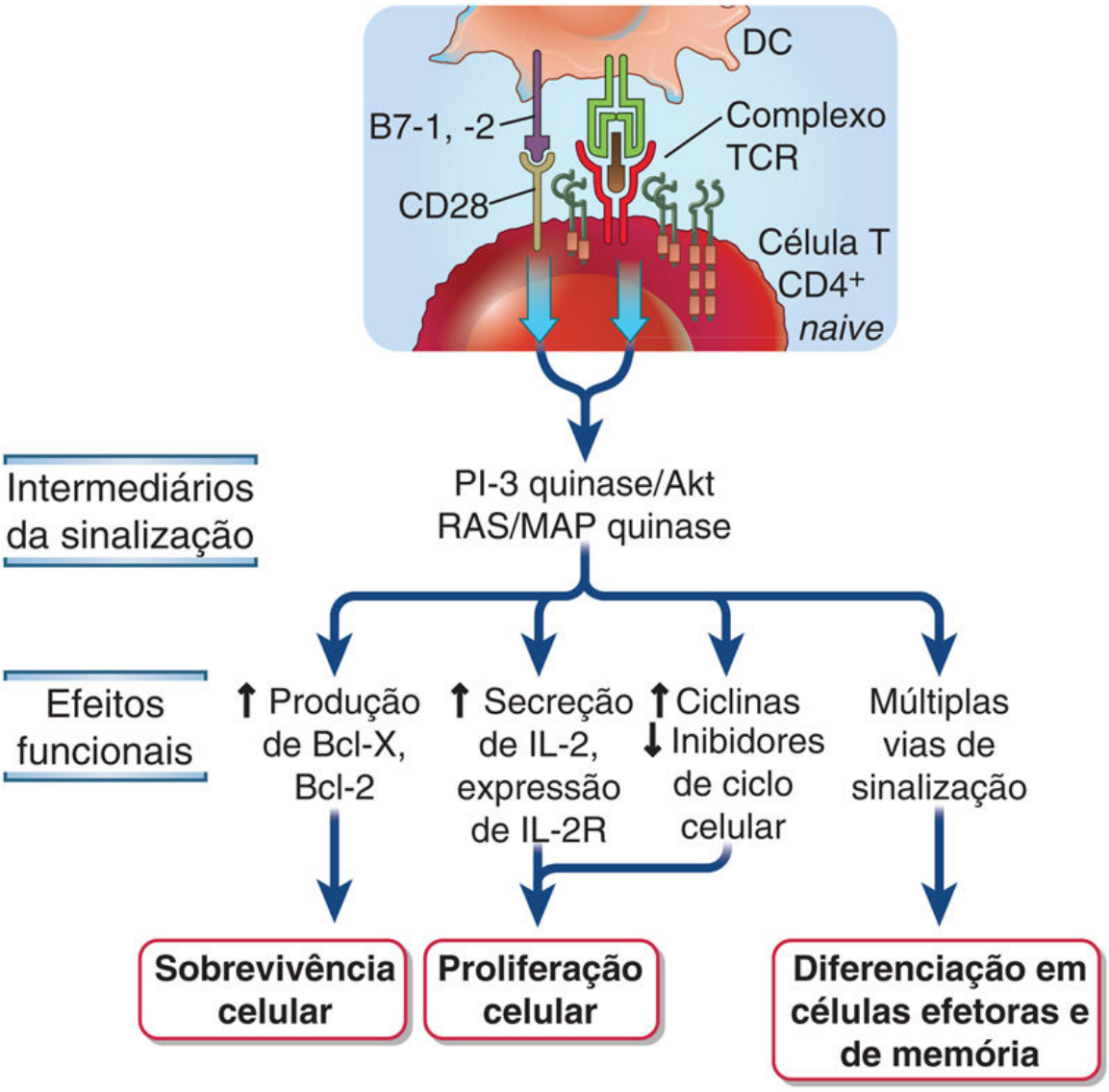


FIGURA 9.4 Mecanismos de coestimulação das células T pelo CD28.
O acoplamento de CD28 induz vias de sinalização que aumentam os sinais do TCR ou desencadeiam sinais adicionais que estimulam a expressão de proteínas de sobrevivência, de citocinas e de receptores de citocinas; promovem a proliferação celular; e induzem a diferenciação em células efetoras e de memória pela ativação de vários fatores de transcrição (não mostrados, Capítulos 10 e 11).

Outros receptores homólogos a CD28 e seus ligantes homólogos a B7 foram identificados, e essas proteínas regulam as respostas das células T, tanto positiva quanto negativamente (Fig. 9.5). Após a demonstração da importância de B7 e CD28, várias outras proteínas estruturalmente relacionadas à B7-1 e B7-2 ou à CD28 foram identificadas. Alguns

membros das famílias B7:CD28 estão envolvidos na ativação de células T (sendo, portanto, coestimuladores), e outros são inibidores essenciais de células T (sendo chamados de coinibidores). Além de CD28, outro receptor coestimulador cuja função está mais bem compreendida é **ICOS** (do inglês, *inducible costimulator*, CD278). Seu ligante, denominado ICOS-L (CD275), é expresso em DCs, células B e outras populações celulares. ICOS desempenha um papel essencial nas respostas de anticorpos dependentes de células T, em particular na reação do centro germinativo. ICOS é necessário para o desenvolvimento e ativação de células T auxiliares foliculares, que são essenciais para a formação de centros germinativos e para a geração de células B de alta afinidade (Capítulo 12).

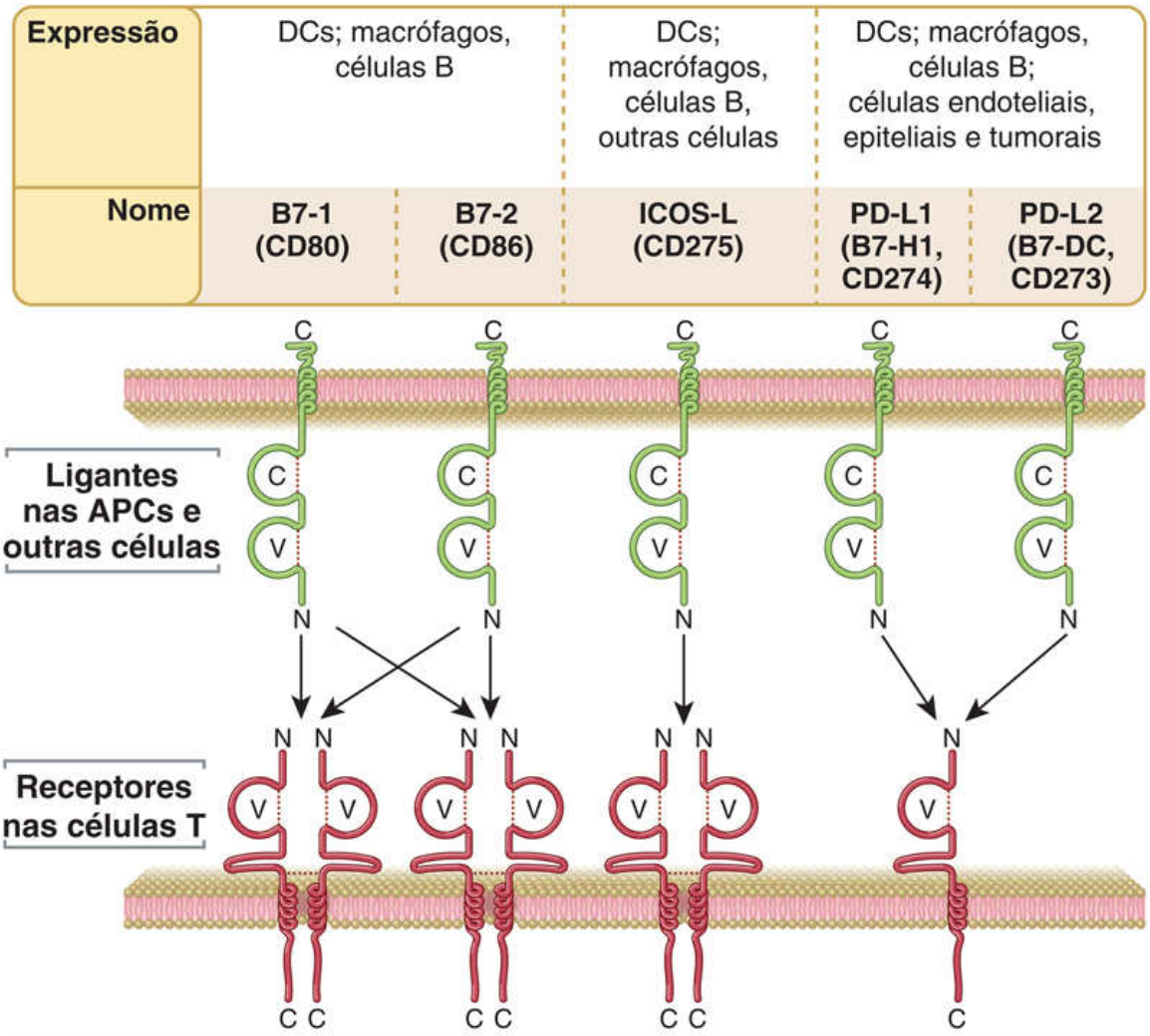


FIGURA 9.5 Principais membros das famílias B7 e CD28. Os ligantes conhecidos da família B7 são expressos em APCs (células dendríticas, macrófagos e células B) e os receptores da família de CD28 são expressos principalmente em células T. Diferentes membros da família de CD28 estimulam ou inibem diferentes estágios e tipos de respostas das células T. As funções de CTLA-4 e PD-1 são discutidas no Capítulo 15 e o papel de ICOS na geração e função de células T auxiliares foliculares é discutido

no Capítulo 12. Outras moléculas amplamente distribuídas com homologia limitada ao B7, tais como B7-H3 e B7-H4, foram identificadas, mas seus papéis fisiológicos ainda não estão estabelecidos. Outros receptores inibidores também foram definidos, como BTLA, TIM-3 e TIGIT, mas estes não são homólogos ao CD28 e não são mostrados; alguns deles são discutidos brevemente no Capítulo 15.

O resultado da ativação das células T é influenciado por um equilíbrio entre o acoplamento de receptores de ativação e inibição da família CD28. Os receptores inibidores da família CD28 são **CTLA-4** (antígeno 4 do linfócito T citotóxico, do inglês, *cytotoxic T lymphocyte antigen 4*) e **PD-1** (morte programada 1, do inglês, *programmed death 1*). Os nomes dessas duas proteínas não refletem com precisão sua distribuição ou função. Ambos os receptores são expressos após a ativação da célula T e atuam para limitar as respostas imunes. O conceito de que um equilíbrio entre receptores de ativação e de inibição controla a magnitude das respostas do sistema imune foi discutido no Capítulo 4, no contexto de células *natural killer* (NK) (Fig. 4.8). Uma ideia semelhante é aplicável às respostas dos linfócitos T e B, embora os receptores envolvidos sejam um tanto diferentes. Uma vez que os receptores inibidores CTLA-4 e PD-1 estão envolvidos no fenômeno de tolerância e que anormalidades em sua expressão ou função causam doenças autoimunes, iremos discuti-los em mais detalhes no Capítulo 15, onde a tolerância imunológica e a autoimunidade serão abordadas. Aqui, basta dizer que CTLA-4 atua como um inibidor competitivo de CD28, pois se liga mais fortemente a moléculas B7, e que PD-1 libera sinais de inibição que bloqueiam a sinalização pelo antígeno e por CD28.

É provável que vários dos receptores coestimuladores e inibidores da família B7-CD28 tenham papéis distintos em diferentes respostas imunes ou em diferentes estágios de uma resposta. Acredita-se que a interação CD28:B7 é mais importante para a iniciação de respostas das células T pela ativação de células T *naive*; interações ICOS: ligante de ICOS são essenciais para as respostas de anticorpos dependentes das células T auxiliares; interações CTLA-4: B7 inibem a ativação inicial dos linfócitos T em órgãos linfoides secundários; e interações PD1: ligante de PD1 inibem a ativação de células efetoras, especialmente em tecidos periféricos. Entretanto, essas distinções não são absolutas e deve haver uma sobreposição nas funções dessas vias.

Outras Vias Coestimuladoras

Muitas outras moléculas de superfície das células T têm sido demonstradas por fornecerem sinais coestimuladores *in vitro*, porém seu papel fisiológico na promoção da ativação das células T está menos esclarecido do que aquele da família CD28. Essas moléculas incluem proteínas da família CD2 e das integrinas, discutidas no Capítulo 7 e 3, respectivamente. Vários outros receptores coestimuladores pertencem à grande superfamília de receptores do fator de necrose tumoral (TNFR, do inglês, *tumor necrosis factor receptor*), enquanto seus ligantes são membros da família do TNF. Muitos receptores estão expressos nas células T ativadas e células T reguladoras, e foram demostrados como ativadores ou inibidores das respostas imunes sob várias condições experimentais. Ox40 (CD134) é um membro da família do TNFR expresso em células T $CD4^+$ e $CD8^+$ ativadas, cuja função é manter a sobrevivência celular e prolongar as respostas. Seu ligante, Ox40L, é expresso em APCs ativadas. Outros dois homólogos do TNFR, 4-1BB (CD137) e CD27, são expressos em células T de memória, bem como em células T reguladoras; seus papéis na regulação das respostas imunes não estão bem definidos. As células T também expressam numerosos receptores inibidores, além de CTLA-4 e PD-1, mas suas funções fisiológicas não estão bem estabeleciddas (Capítulo 15).

A interação de CD40L nas células T com o CD40 nas APCs amplifica as respostas das células T pela ativação das APCs. O ligante de CD40 (CD40L) é uma proteína de membrana da superfamília do TNF expressa primariamente em células T ativadas; o CD40 é um membro da superfamília do TNFR expresso em células B, macrófagos e DCs. As funções do CD40 na ativação de macrófagos na imunidade mediada por células e na ativação de células B nas respostas imunes humorais serão descritas nos Capítulos 10 e 12, respectivamente. As células T auxiliares ativadas expressam o CD40L, que se liga ao CD40 nas APCs e as ativa para torná-las mais potentes pela amplificação da sua expressão de moléculas B7 e da secreção de citocinas, tais como IL-12, que promovem a diferenciação das células T (Fig. 9.6). Esse fenômeno é ocasionalmente chamado licenciamento, porque as células T ativadas "licenciam" APCs para se tornarem estimuladoras mais potentes das respostas imunes. Assim, a via de CD40 amplifica indiretamente as respostas da célula T por induzir coestimuladores nas APCs, mas o CD40L sozinho não funciona como um coestimulador para as células T.

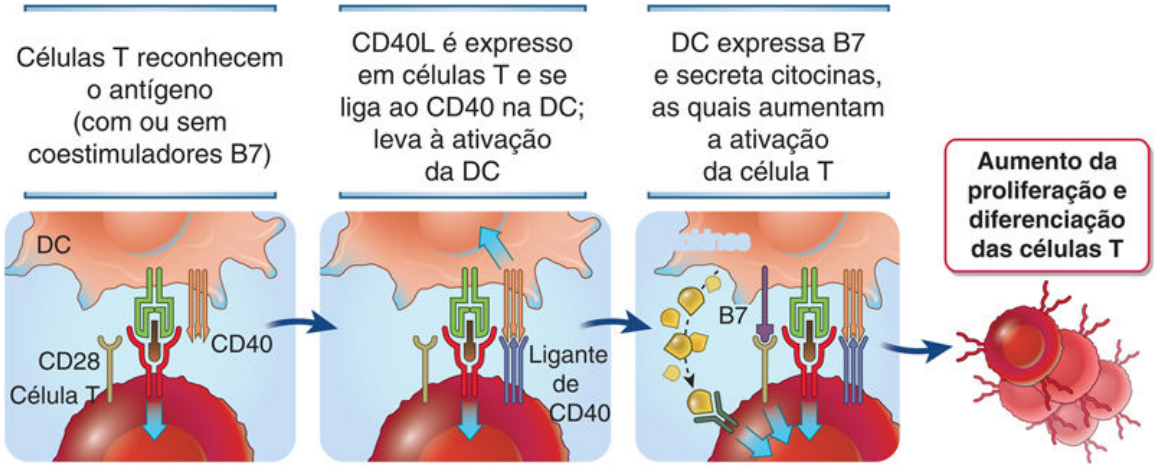


FIGURA 9.6 Papel do CD40 na ativação das células T.
O reconhecimento do antígeno pelas células T em conjunto com a coestimulação (*não mostrado*) induz a expressão do ligante de CD40 (CD40L) em células T ativadas. O CD40L liga-se ao CD40 nas APCs e pode estimular a expressão de mais moléculas B7 e a secreção de citocinas que ativam as células T. Assim, o CD40L nas células T torna as APCs melhores em promover e amplificar a ativação das células T.

Bloqueio Terapêutico do Coestimulador

Com base no entendimento das vias de coestimulação, agentes terapêuticos estão sendo desenvolvidos para o controle de respostas imunes prejudiciais (Fig. 9.7). O CTLA-4-Ig, uma proteína de fusão que consiste em um domínio extracelular de CTLA-4 e na porção Fc da IgG humana, liga-se a B7-1 e B7-2 e bloqueia a interação B7:CD28. A razão para o uso do domínio extracelular de CTLA-4 (em vez de CD28) para bloquear as moléculas B7 é que CTLA-4 tem maior afinidade por B7 do que CD28. A ligação da porção Fc da IgG aumenta a meia-vida da proteína *in vivo* (Capítulo 5). O CTLA-4-Ig é uma terapia aprovada para a artrite reumatoide e rejeição a transplantes. Inibidores da via CD40L:CD40 estão sendo avaliados em ensaios clínicos para rejeição a transplantes e doenças autoimunes.

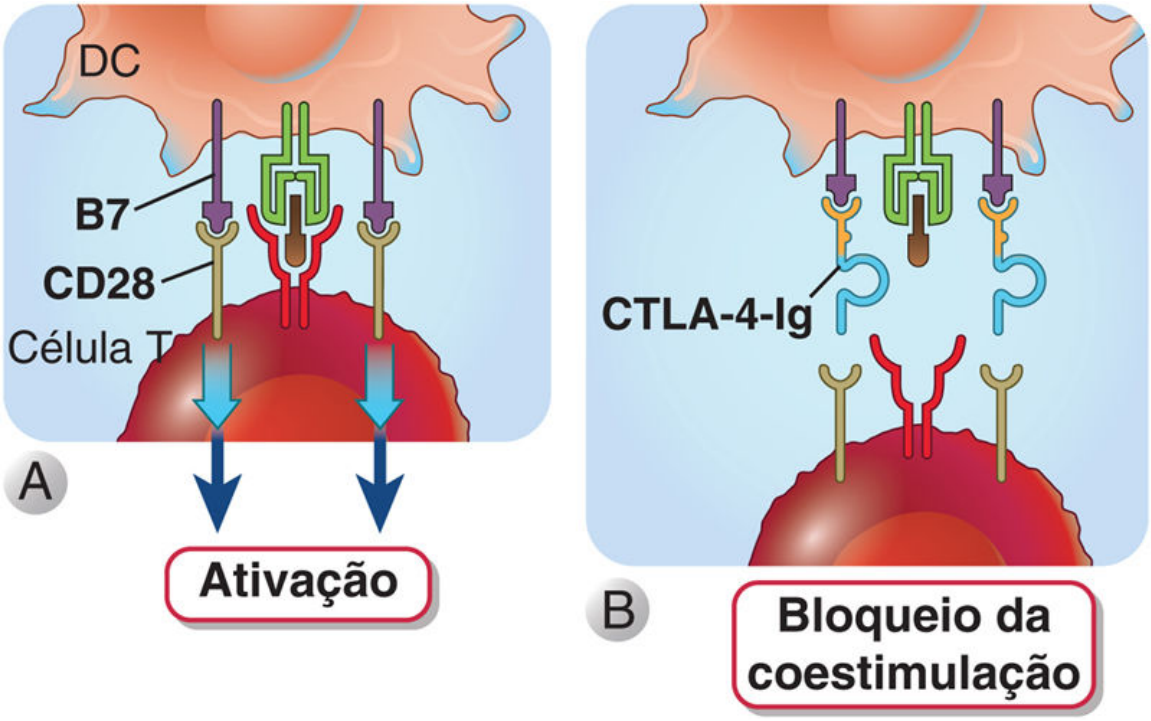


FIGURA 9.7 Mecanismo de bloqueio da coestimulação terapêutica.
A, Resposta normal de células T induzida pelo reconhecimento do antígeno mediada por B7-CD28. **B,** Uma proteína de fusão que consiste na porção extracelular de CTLA-4 e na cauda Fc de uma molécula de IgG é utilizada para se ligar e bloquear as moléculas B7, prevenindo, assim, sua interação com o receptor de ativação CD28 e inibindo a ativação das células T.

Anticorpos que bloqueiam os receptores inibidores CTLA-4 e PD-1 foram aprovados para a imunoterapia de tumores. Esses anticorpos funcionam por meio da prevenção da ligação de CTLA-4 e PD-1 aos seus ligantes, reduzindo desse modo a inibição e aumentando a ativação das células T, e possibilitando que o portador do tumor monte uma resposta imune antitumoral mais efetiva (Capítulo 18). Como previsto, a partir do papel desses receptores inibidores na manutenção de autotolerância, seu bloqueio para a imunoterapia do câncer induz reações autoimunes em muitos pacientes.

Respostas Funcionais dos Linfócitos T

As respostas iniciais das células T estimuladas por antígenos consistem em alterações na expressão de várias moléculas de superfície, incluindo receptores de citocinas, bem como na secreção de citocinas. Essas mudanças são seguidas pela proliferação de células antígeno-específicas, dirigida em parte pelas citocinas secretadas, e então pela diferenciação de células ativadas em células efetoras e de memória. Nos lembretes deste capítulo, descreveremos esses passos, seus mecanismos adjacentes e suas consequências funcionais.

Alterações nas Moléculas de Superfície durante a Ativação das Células T

Após a ativação pelo reconhecimento do antígeno e coestimulação, ocorrem alterações características na expressão de várias moléculas de superfície nas células T (Fig. 9.8). Muitas dessas moléculas expressas em células T ativadas estão também envolvidas nas respostas funcionais das células. As moléculas funcionalmente importantes induzidas após o reconhecimento do antígeno e coestimuladores estão mais bem definidas nas células T $CD4^+$ e incluem:

- ***CD69***. Dentro de algumas horas, as células T aumentam sua expressão de CD69. Essa proteína se liga e reduz a expressão de superfície do receptor da esfingosina 1-fosfato (S1PR1, do inglês, *sphingosine 1-phosphate receptor*), descrito no Capítulo 3 como um receptor que medeia a saída das células T dos órgãos linfoides. A consequência da expressão reduzida de S1PR1 é que as células T ativadas são retidas nos órgãos linfoides por tempo suficiente para receberem os sinais que iniciam sua proliferação e diferenciação em células efetoras e de memória. Nesse momento, a expressão de CD69 diminui, as células T ativadas reexpressam altos níveis de S1PR1 e, como consequência, células efetoras e de memória podem sair dos órgãos linfoides.
- ***CD25 (IL-2Rα).*** A expressão desse receptor para o fator de crescimento IL-2 permite que células T ativadas respondam a esta citocina. Esse processo é descrito adiante.

- ***Ligante de CD40 (CD40L, CD154)***. Dentro de 24 a 48 horas após o reconhecimento do antígeno, as células T expressam altos níveis do ligante para CD40. A expressão do CD40L possibilita a essas células T ativadas mediarem as suas funções efetoras-chave, que são auxiliar os macrófagos e as células B. Adicionalmente, como já discutido, o CD40L nas células T ativa as DCs a se tornarem melhores APCs, proporcionando, assim, um mecanismo de *feedback* positivo para amplificar as respostas das células T.
- ***CTLA-4 (CD152)***. O CTLA-4 é expresso em células T dentro de 24 a 48 horas após o reconhecimento do antígeno. A função do CTLA-4 é descrita no Capítulo 15 (Fig. 15.5).
- ***Moléculas de adesão e receptores de quimiocinas***. Durante a ativação, as células T reduzem a expressão de moléculas que as direcionam para os órgãos linfoides (tais como a L-selectina [CD62L] e o receptor de quimiocina CCR7) e aumentam a expressão de moléculas envolvidas na sua migração para os sítios periféricos de infecção e de lesão tecidual (como as integrinas LFA-1 e VLA-4, os ligantes para E- e P-selectinas, e vários receptores de quimiocinas). Essas moléculas e suas funções na migração de células T foram descritas no Capítulo 3. A ativação também aumenta a expressão de CD44, receptor para o ácido hialurônico, uma molécula da matriz extracelular. A ligação de CD44 ao seu ligante ajuda a reter as células T efetoras nos tecidos, em locais de infecção e dano tecidual.

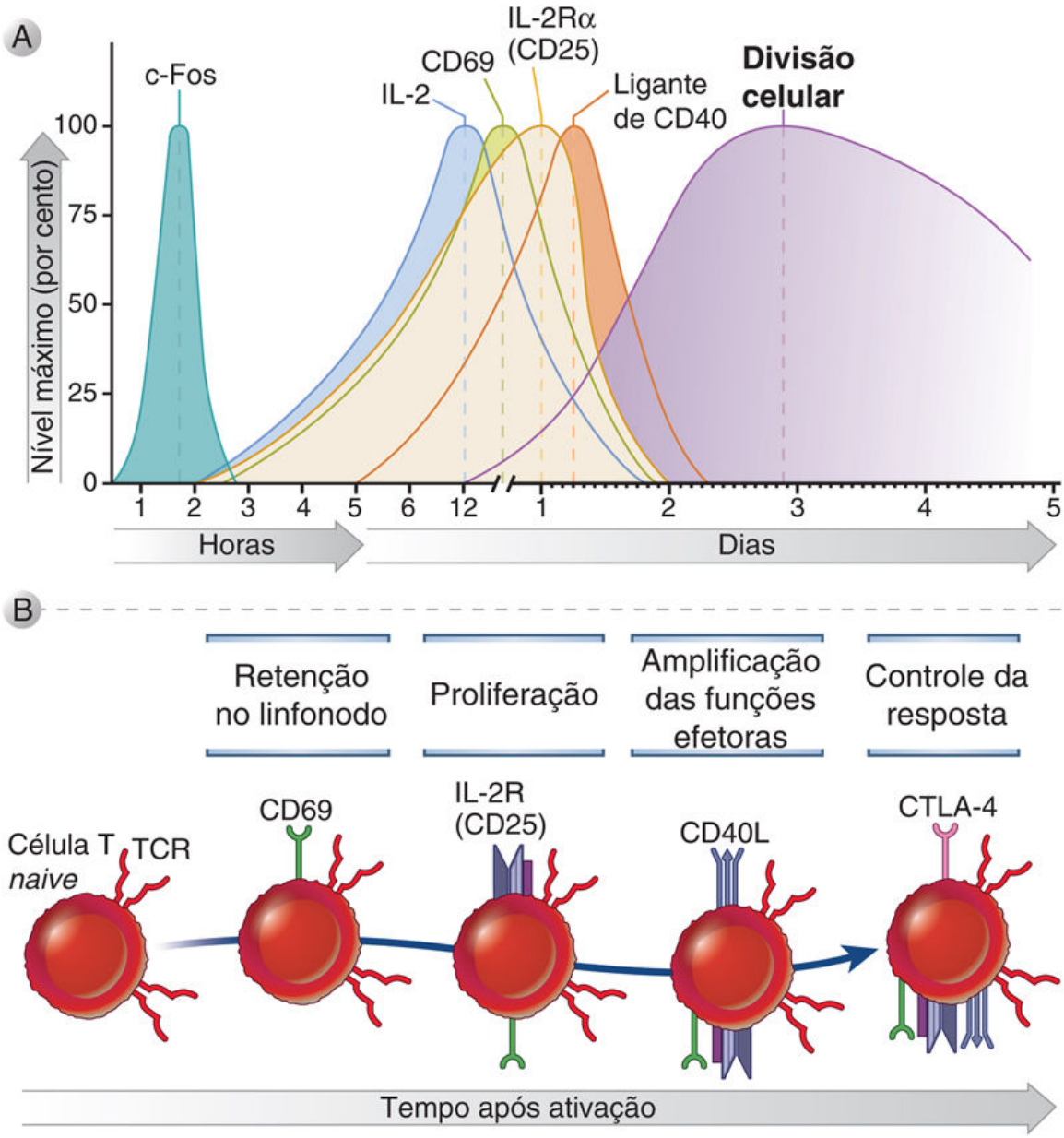


FIGURA 9.8 Alterações nas moléculas de superfície após a ativação das células T.
A, As cinéticas aproximadas da expressão de moléculas selecionadas durante a ativação das células T por antígenos e coestimuladores são mostradas. Os exemplos ilustrativos incluem um fator de transcrição (c-Fos), uma citocina (IL-2) e proteínas de superfície. Essas proteínas são normalmente expressas em baixos níveis nas células T *naive* e são induzidas por sinais de ativação. O CTLA-4 é induzido 1 a 2 dias depois da ativação inicial. As cinéticas são estimadas e variam conforme a natureza do antígeno, sua dose e persistência, e o tipo de adjuvante. **B,** As principais funções de moléculas de superfície selecionadas são mostradas e descritas no texto. *CD40L*, ligante de CD40; *IL-2R*, receptor de IL-2.

Citocinas nas Respostas Imunes Adaptativas

Numerosas citocinas desempenham papéis cruciais nas respostas imunes adaptativas. As células T auxiliares $CD4^+$ produzem a maior quantidade e variedade dessas citocinas, mas algumas também são produzidas por células T $CD8^+$ e APCs. As citocinas secretadas pelas DCs e outras APCs são especialmente importantes para a diferenciação de células T *naive* em células efetoras. Diferentes citocinas estão envolvidas na proliferação e diferenciação de células T e B estimuladas por antígeno, bem como nas funções efetoras das células T. A maioria dessas citocinas atua sobre as células que as produzem (ação autócrina) ou em células vizinhas (ação parácrina).

Os papéis das citocinas nas funções efetoras das células T serão descritos nos Capítulos 10 e 11. Aqui discutimos a interleucina-2, o protótipo de uma citocina derivada da célula T que estimula as respostas de células T.

Secreção de IL-2 e Expressão do Receptor de IL-2

A interleucina-2 (IL-2) é um fator de crescimento, sobrevivência e diferenciação para os linfócitos T, que desempenha um papel essencial na proliferação de células T estimuladas pelo antígeno e na manutenção de células T reguladoras funcionais. Em virtude da sua capacidade de sustentar a proliferação das células T, a IL-2 foi originalmente chamada de fator de crescimento das células T (TCGF, do inglês, *T cell growth factor*). A IL-2 atua sobre as mesmas células que a produzem ou em células adjacentes (i.e., funciona como uma citocina autócrina ou parácrina).

A IL-2 é produzida principalmente pelos linfócitos T $CD4^+$ logo após o reconhecimento do antígeno e dos coestimuladores. A ativação das células T estimula a transcrição do gene *Il2* e a síntese e secreção da proteína. A produção de IL-2 é rápida e transitória, iniciando-se a partir de 1 a 2 horas após o reconhecimento do antígeno, atingindo um pico em cerca de 8 a 12 horas e reduzindo-se em 24 horas. As células T $CD4^+$ secretam IL-2 na sinapse imunológica formada entre a célula T e a APC (Capítulo 7). Os receptores de IL-2 (IL-2R) em células T também tendem a se localizar na sinapse, de modo que a citocina e seu receptor alcancem concentrações locais suficientemente altas para iniciar as respostas celulares.

A IL-2 secretada é uma glicoproteína globular de 14 a 17 kDa contendo quatro α-hélices (Fig. 9.9). Ela é o protótipo das citocinas com quatro α-hélices que interagem com os receptores de citocinas do tipo I (Capítulo 7).

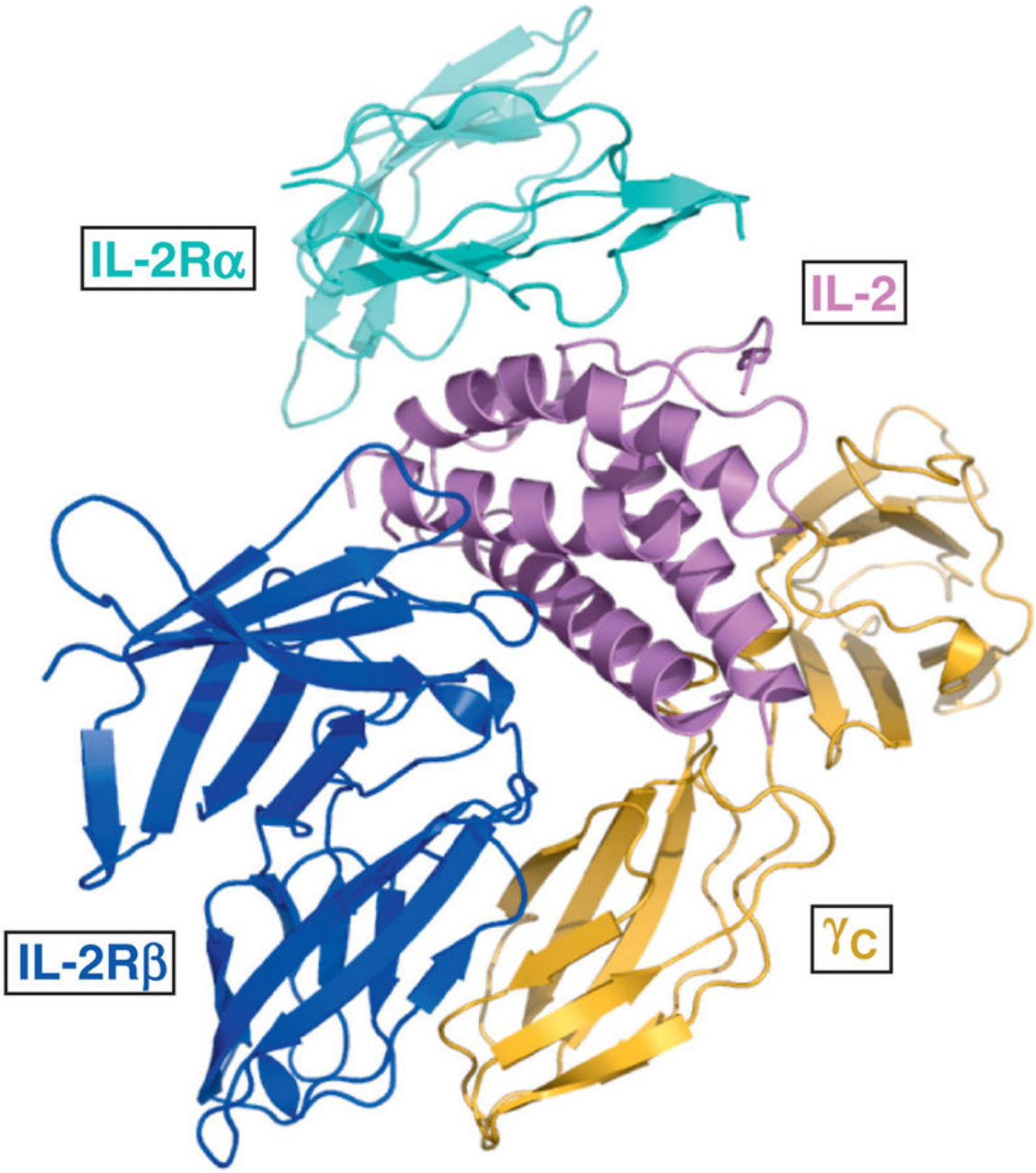


FIGURA 9.9 Estrutura da IL-2 e seu receptor.
A estrutura cristalina da IL-2 e seu receptor trimérico mostra como a citocina interage com as três cadeias do receptor. (De Wang X, Rickert M, Garcia KC: Structure of the quaternary complex of interleukin-2 with its α, β, and γc receptors, Science 310:1159-1163, 2005, com a permissão dos editores. Cortesia de Drs. Patrick Lupardus e K. Christopher Garcia, Stanford University School of Medicine, Palo Alto, California.)

Os IL-2Rs de alta afinidade são expressos transitoriamente na ativação de células T* naive *e efetoras; as células T reguladoras sempre expressam

esses receptores. O IL-2R é constituído por três proteínas associadas não covalentemente: IL-2Rα (CD25), IL-2/15Rβ (CD122) e γ_c (CD132). Dentre as três cadeias, apenas IL-2Rα é exclusiva do IL-2R. A cadeia β também faz parte do receptor de IL-15. A cadeia γ é compartilhada com vários receptores de citocinas, incluindo aqueles para a IL-4, IL-7, IL-9, IL-15 e IL-21, sendo, portanto, chamada de cadeia γ comum (γ_c). Tanto a cadeia β quanto a γ_c disparam vias de sinalização JAK-STAT (Capítulo 7). Os complexos IL-2R $\beta\gamma_c$ estão expressos em baixos níveis nas células T em repouso (e nas células NK) e ligam-se à IL-2 com uma K_d de aproximadamente 10^{-9} M (Fig. 9.10). A expressão de IL-2Rα e, em menor grau, de IL-2Rβ, é aumentada na ativação de células T $CD4^+$ e $CD8^+$ *naive*. A cadeia α se associa ao complexo $\beta\gamma_c$ para formar o IL-2R completo, o complexo IL-2R$\alpha\beta\gamma_c$, o qual pode se ligar à IL-2 mais firmemente, com uma K_d de aproximadamente, 10^{-11} M. Dessa maneira, a estimulação do crescimento das células T ativadas ocorre em baixas concentrações de IL-2. Como tanto a secreção de IL-2 quanto a produção de IL-2Rα ocorrem em resposta à estimulação antigênica, as células T ativadas pelo antígeno são aquelas que proliferam preferencialmente em resposta à citocina, em comparação com as células presentes não ativadas. A própria IL-2, produzida em resposta à estimulação antigênica, é um estímulo para a indução de IL-2Rα, fornecendo um mecanismo de *feedback* pelo qual as respostas das células T se autoamplificam. As células T $CD4^+$ reguladoras (Capítulo 15) expressam o complexo IL-2R completo. A estimulação crônica das células T leva à liberação de IL-2Rα e níveis aumentados de IL-2Rα secretados no soro é um marcador de forte estimulação antigênica (p. ex.: rejeição aguda a um órgão transplantado).

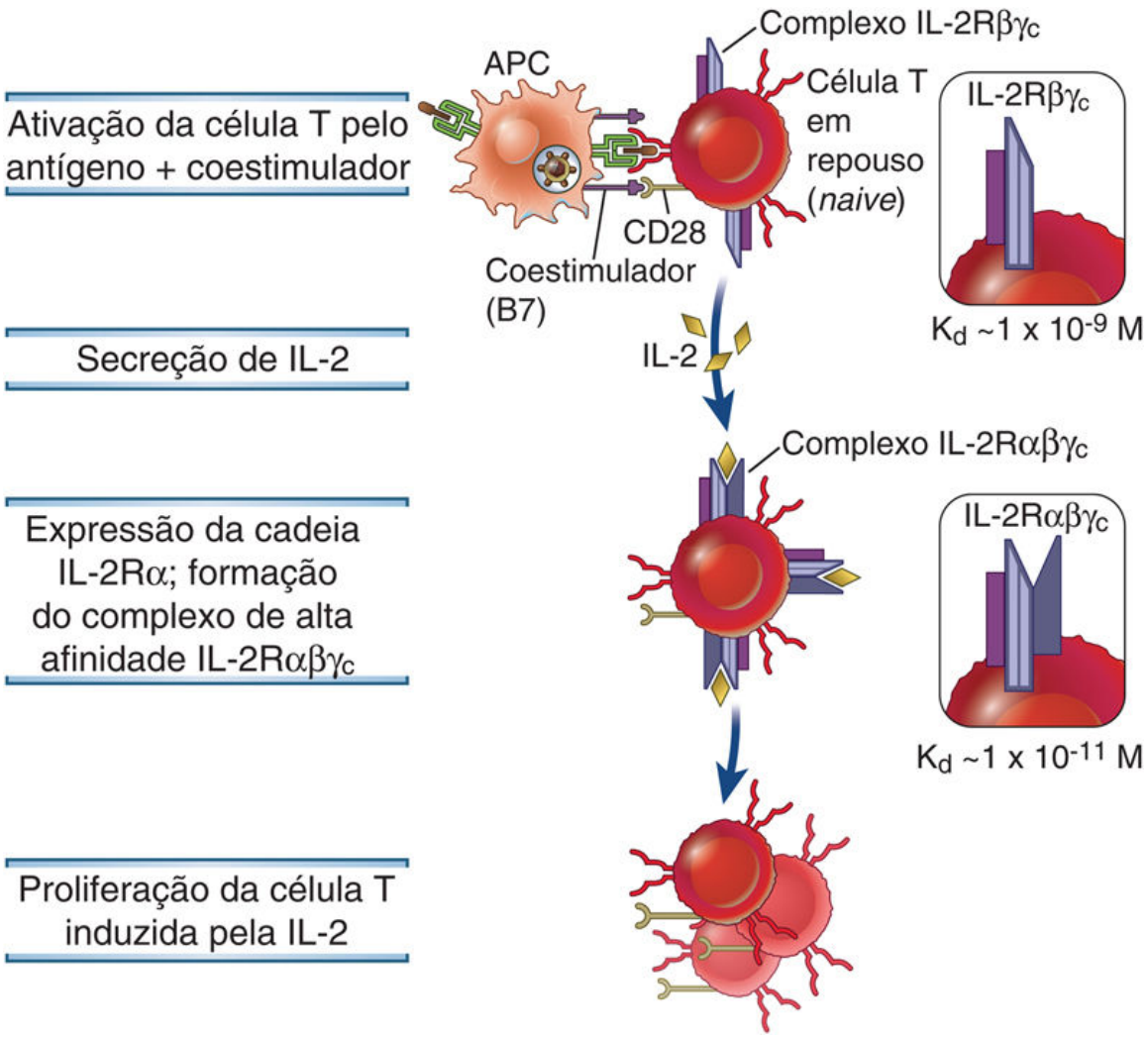


FIGURA 9.10 Regulação da expressão do receptor da IL-2. Os linfócitos T em repouso (*naive*) expressam o complexo IL-2Rβγ$_c$, o qual tem afinidade moderada para IL-2. A ativação das células T pelo antígeno, coestimuladores e pela própria IL-2 leva à expressão da cadeia IL-2Rα (também chamada CD25) e níveis aumentados do complexo de alta afinidade IL-2Rαβγ$_c$.

Funções da IL-2

A biologia da IL-2 é fascinante porque essa citocina possui papéis essenciais tanto na promoção quanto no controle das respostas e funções das células T (Fig. 9.11).

- ***A IL-2 estimula a sobrevivência, proliferação e diferenciação de células T ativadas pelo antígeno***. A IL-2 promove a sobrevivência

das células pela indução da proteína antiapoptótica Bcl-2. A IL-2 também estimula a progressão do ciclo celular por meio da ativação da via de sinalização envolvendo mTOR (Capítulo 7), a qual induz a síntese de ciclinas e atenua um bloqueio na progressão do ciclo celular através da degradação do inibidor de ciclo celular p27. Além disso, a IL-2 aumenta a produção de citocinas efetoras, tais como IFN-γ e IL-4, pelas células T.

- ***A IL-2 é necessária para a sobrevivência e o funcionamento das células T reguladoras***, as quais suprimem as respostas imunes contra os autoantígenos e outros antígenos. Essas células expressam constitutivamente o receptor de IL-2 completo, incluindo a cadeia α do CD25, estando assim preparadas para responder à IL-2. Camundongos *knockout* sem IL-2 ou sem as cadeias α e β do receptor de IL-2 desenvolvem proliferação descontrolada de células T e B e doença autoimune em decorrência de defeitos nas células T reguladoras. Esse achado sugere que outros fatores de crescimento podem substituir a IL-2 para a expansão de células T efetoras, mas nenhuma outra citocina pode substituir a IL-2 para a manutenção de células T reguladoras funcionais. Discutiremos o papel da IL-2 em mais detalhes no Capítulo 15, quando serão descritas as propriedades e funções das células T reguladoras. Uma característica interessante dessa função da IL-2 é que as células T reguladoras não produzem quantidades significativas da citocina, o que implica que elas dependem da IL-2 produzida por outras células T respondendoras aos antígenos para sua sobrevivência (Fig. 9.11B).
- Também foi mostrado que a IL-2 estimula a proliferação e diferenciação das células NK e das células B *in vitro*. A importância fisiológica dessas atividades não está estabelecida.

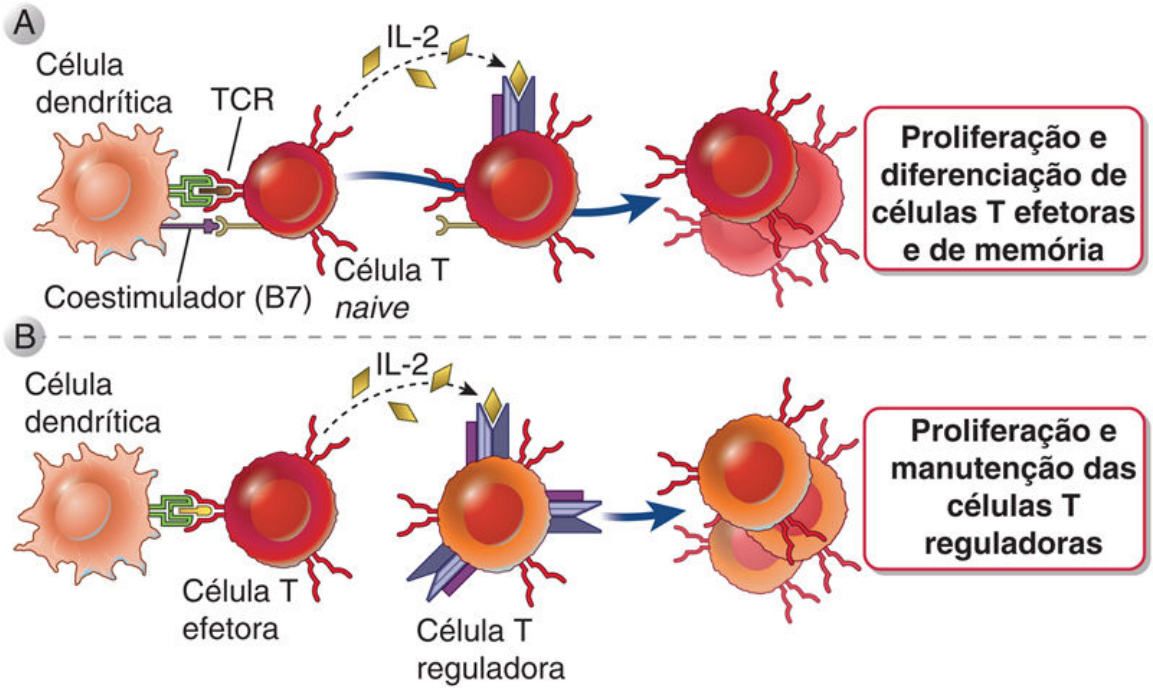


FIGURA 9.11 Ações biológicas de IL-2.
A, A IL-2 estimula a sobrevivência, proliferação e diferenciação de linfócitos T, atuando como um fator de crescimento autócrino, levando à geração de células efetoras e de memória. **B,** A IL-2 também promove a sobrevivência das células T reguladoras e mantém sua capacidade funcional, e assim controla as respostas imunes (p. ex.: contra autoantígenos).

Expansão Clonal das Células T

A proliferação das células T em resposta ao reconhecimento do antígeno é mediada por uma combinação de sinais desencadeados a partir do receptor antigênico, coestimuladores e fatores de crescimento autócrinos, principalmente a IL-2. A expansão de clones antígeno-específicos que resulta dessa proliferação converte um pequeno *pool* de linfócitos *naive* específicos para o antígeno em um grande número de células necessárias para eliminar o antígeno. Antes da exposição ao antígeno, a frequência de células T *naive* específicas para qualquer antígeno é de 1 em 10^5 a 1 em 10^6 linfócitos, ou menos. Após a exposição ao antígeno microbiano, a frequência de células T $CD8^+$ específicas para aquele microrganismo pode aumentar para até 1 em 3 linfócitos T $CD8^+$, representando uma expansão de mais de 50.000 vezes das células T $CD8^+$ específicas para o antígeno. O número de células $CD4^+$ específicas aumenta para até 1 em 100 linfócitos

$CD4^+$, ou uma expansão de 1.000 vezes (Fig. 9.12). Estudos em camundongos primeiro mostraram essa enorme expansão da população antígeno-específica em algumas infecções virais agudas e, notavelmente, isso ocorreu dentro de apenas 1 semana após a infecção. Igualmente notável foi a constatação de que, durante essa massiva expansão clonal antígeno-específica, as células T presentes, mas não específicas para o vírus, não proliferaram. A expansão de células T específicas para o vírus Epstein-Barr e para o vírus da imunodeficiência humana (HIV, do inglês, *human immunodeficiency virus*) é também dessa magnitude em pacientes com infecção aguda.

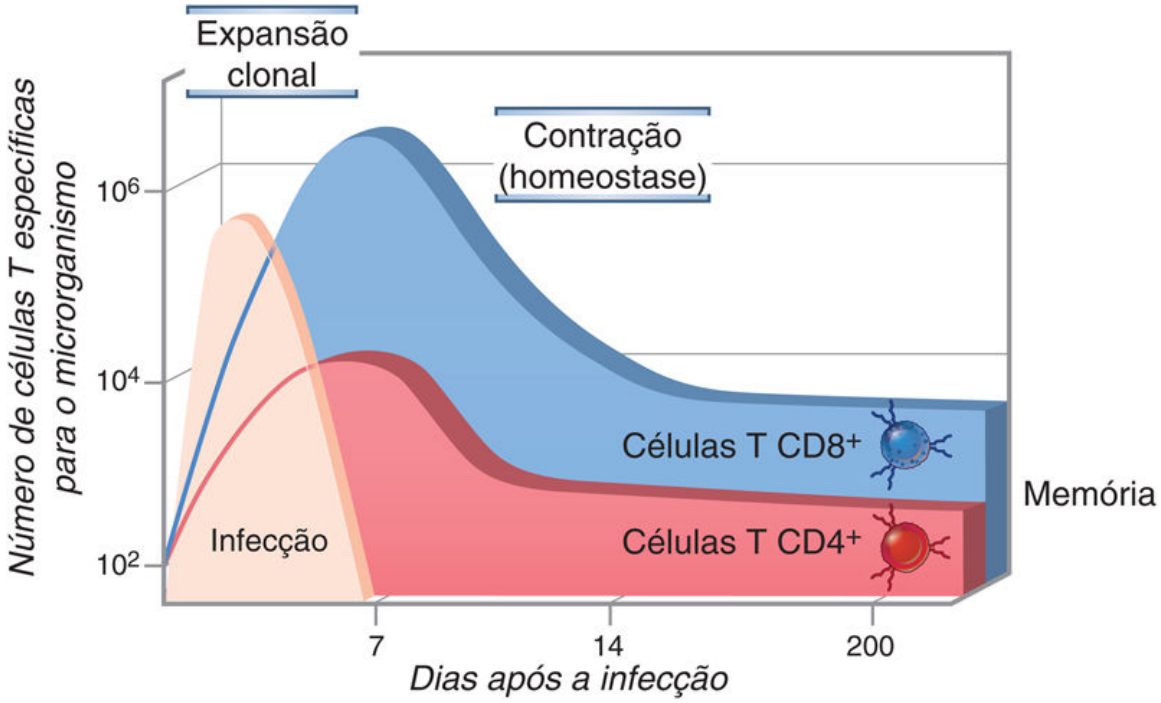


FIGURA 9.12 Expansão clonal das células T.
Os números de células T $CD4^+$ e $CD8^+$ específicas para antígenos microbianos e a expansão e declínio das células durante as respostas imunes são ilustrados. Os números são aproximações fundamentadas em estudos de modelo microbiano e outros antígenos em camundongos isogênicos.

Diferenciação das Células T Ativadas em Células Efetoras

Boa parte da progênie das células T estimuladas pelo antígeno se diferencia em células efetoras. Como explicado na visão geral deste capítulo, as células efetoras da linhagem $CD4^+$ expressam moléculas de superfície e secretam citocinas que ativam outras células (linfócitos B, macrófagos e DCs). Enquanto as células T *naive* $CD4^+$ produzem principalmente IL-2 na sua ativação, as células T efetoras $CD4^+$ são capazes de produzir um grande número e variedade de citocinas com diversas atividades biológicas. Células efetoras $CD8^+$ são citotóxicas e destroem as células infectadas. Como existem diferenças importantes entre as células efetoras das linhagens $CD4^+$ e $CD8^+$, descreveremos seu desenvolvimento e funções separadamente, nos Capítulos 10 e 11.

Desenvolvimento e Propriedades das Células T de Memória

Respostas imunes a um antígeno mediadas por células T normalmente resultam na geração de células T de memória específicas para aquele antígeno, as quais podem persistir por anos, ou mesmo por toda a vida. As células de memória conferem uma defesa efetiva contra patógenos prevalentes no ambiente e que podem ser encontrados repetidamente. O sucesso da vacinação é atribuído em grande parte à capacidade de gerar células de memória em uma exposição inicial ao antígeno. O experimento clássico de Edward Jenner sobre a vacinação bem-sucedida de uma criança contra a varíola é uma demonstração de resposta de memória. Apesar da importância da memória imunológica, muitas questões fundamentais sobre a geração de células de memória ainda não foram respondidas.

As células de memória podem se desenvolver a partir de células efetoras ao longo de uma via linear, ou populações efetoras e de memória seguem uma diferenciação divergente e representam dois destinos alternativos dos linfócitos ativados pelo antígeno e outros estímulos (Fig. 9.13). Os mecanismos que determinam se uma célula T individual estimulada pelo antígeno se tornará uma célula efetora de vida curta ou entrará no *pool* de células de memória de longa vida não estão estabelecidos. Os sinais que dirigem o desenvolvimento de células de memória também não estão totalmente compreendidos. Uma possibilidade é que os tipos de fatores de transcrição induzidos durante a ativação das células T influenciem a escolha entre o desenvolvimento de células efetoras ou de memória. Por exemplo, a expressão do fator de transcrição T-bet conduz a diferenciação de células efetoras $CD4^+$ e $CD8^+$ em direção às células efetoras, enquanto a expressão de um fator de transcrição diferente, Blimp-1, promove a

geração de células de memória. Não é claro ainda se a indução desses fatores de transcrição é um processo aleatório (estocástico) ou se é influenciada por sinais externos específicos.

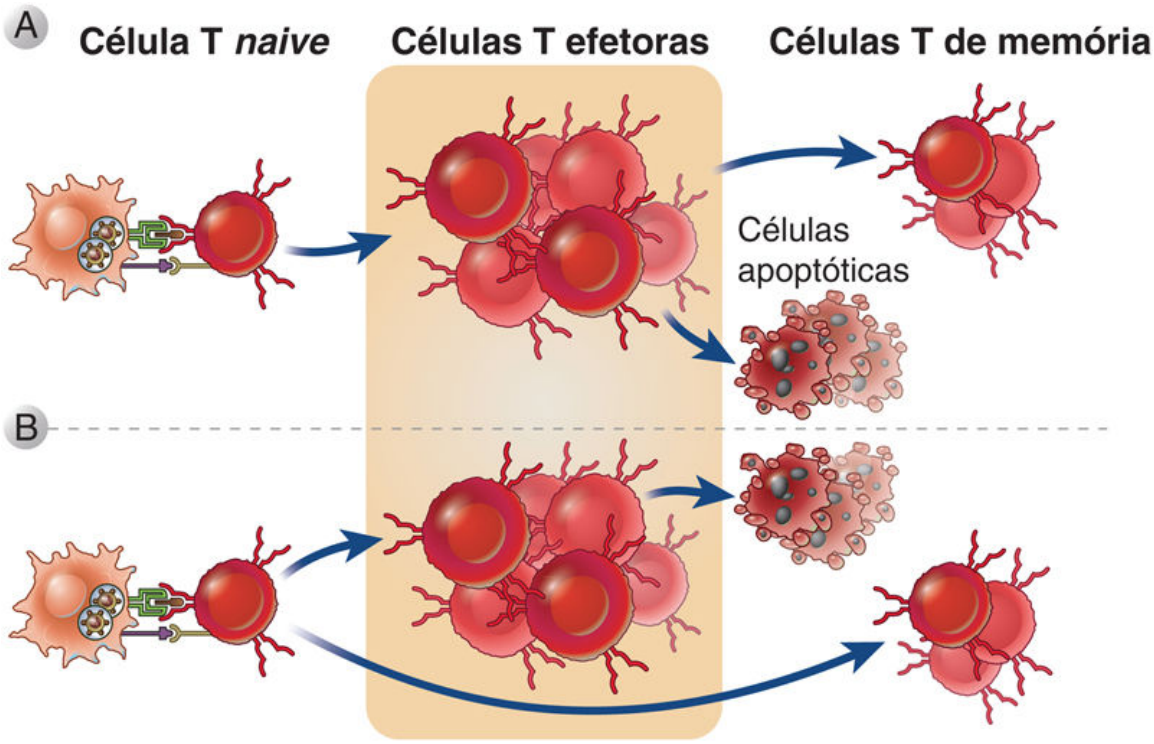


FIGURA 9.13 Desenvolvimento das células T de memória. Em resposta ao antígeno e à coestimulação, as células T *naive* diferenciam-se em células efetoras e de memória. **A,** De acordo com o modelo linear de diferenciação de células T de memória, a maioria das células efetoras morre e algumas sobreviventes se desenvolvem em uma população de memória. **B,** De acordo com o modelo de diferenciação ramificada, células efetoras e de memória são destinos alternativos das células T ativadas.

Propriedades das Células T de Memória

***As propriedades que definem as células de memória são sua capacidade de sobreviver em estado quiescente após a eliminação do antígeno e iniciar respostas maiores e mais rápidas aos antígenos do que as geradas pelas células* naive**. Algumas características de células de memória explicam essas propriedades:

- ***As células de memória expressam níveis aumentados de proteínas antiapoptóticas, as quais podem ser responsáveis por sua sobrevivência prolongada.*** Enquanto as células T *naive* vivem por semanas ou meses e são substituídas por células maduras que se desenvolvem no timo, as células T de memória podem sobreviver por anos. Assim, como os seres humanos envelhecem em um ambiente onde estão constantemente expostos e respondendo a agentes infecciosos, a proporção de células de memória induzidas por esses microrganismos aumenta progressivamente em comparação às células *naive*. Em indivíduos com 50 anos de idade ou mais, metade ou mais das células T circulantes podem ser células de memória (Fig. 2.10, Capítulo 2). As proteínas antiapoptóticas que promovem a sobrevivência das células de memória incluem Bcl-2 e Bcl-X_L, as quais bloqueiam a apoptose induzida por uma deficiência dos sinais de sobrevivência (Fig. 15.7). A presença dessas proteínas permite que as células de memória sobrevivam mesmo depois que o antígeno é eliminado e que as respostas imunes inatas tenham diminuído, quando os sinais normais para a sobrevivência e proliferação das células T não estão mais presentes.
- ***As células de memória respondem mais rapidamente à estimulação antigênica do que as células* naive *específicas para o mesmo antígeno.*** Por exemplo, estudos com camundongos mostraram que as células T *naive* se diferenciam em células efetoras em resposta ao antígeno dentro de 5 a 7 dias, mas que células de memória levam 1 a 3 dias para adquirirem funções efetoras (Fig. 1.2, Capítulo 1). Uma possível explicação para essa diferenciação acelerada é que os *loci* gênicos para citocinas e outras moléculas efetoras são mantidos em um estado acessível na cromatina das células de memória, em parte por causa de mudanças na metilação e acetilação das histonas. Esses genes modificados epigeneticamente estão preparados para responder rapidamente ao desafio antigênico.
- ***O número de células T de memória específicas para qualquer antígeno é maior do que o número de células* naive *específicas para o mesmo antígeno.*** Como discutimos anteriormente, a proliferação leva a uma grande expansão clonal em todas as respostas imunes e a diferenciação dos linfócitos *naive* em células efetoras, a maioria das quais morre após da eliminação do antígeno. As células de memória do clone expandido que

permanecem são tipicamente 10 a 100 vezes mais numerosas do que o *pool* de células *naive* antes do encontro com o antígeno. O aumento do tamanho da população de clones é um dos motivos pelo qual o desafio antigênico em um indivíduo previamente imunizado induz uma resposta mais robusta do que a primeira imunização em um indivíduo *naive*. Como esperado, o tamanho do *pool* de memória é proporcional ao tamanho da população *naive* antígeno-específica.

- ***As células de memória são capazes de migrar para os tecidos periféricos e responder a antígenos nesses locais.*** Como discutido no Capítulo 3, as células T *naive* migram preferencialmente para os órgãos linfoides secundários, mas as células de memória podem migrar para praticamente qualquer tecido. Essas diferenças estão relacionadas com variações na expressão de moléculas de adesão e receptores de quimiocinas. Além disso, as células T de memória são menos dependentes de coestimulação do que as células *naive*, permitindo que as células de memória respondam a antígenos apresentados por uma vasta gama de APCs em tecidos periféricos; em contraste, como já discutimos anteriormente, as células T *naive* são dependentes da apresentação de antígenos pelas DCs maduras em órgãos linfoides.
- ***As células de memória passam por uma proliferação lenta, e essa capacidade de autorrenovação pode contribuir para o longo tempo de vida do* pool *de memória.*** A ciclagem dessas células pode ser dirigida por citocinas. Em função da sua capacidade de autorrenovação, células de memória têm sido comparadas às células-tronco.
- ***A manutenção das células de memória é dependente de citocinas, mas não requer o reconhecimento do antígeno.*** A citocina mais importante para a manutenção das células T $CD4^+$ e $CD8^+$ de memória é a IL-7, a qual também desempenha um papel-chave no desenvolvimento inicial dos linfócitos (Capítulo 8) e na sobrevivência de células T *naive* (Capítulo 2). De forma previsível, a alta expressão do receptor de IL-7 (CD127) é característica de células T de memória. As células T de memória $CD8^+$ também dependem da citocina relacionada IL-15 para sua sobrevivência. IL-7 e IL-15 induzem a expressão de proteínas antiapoptóticas e estimulam o baixo nível de proliferação, e ambas mantêm as populações de células T de memória por longos períodos. A capacidade das células de memória sobreviverem sem o

reconhecimento do antígeno foi mais bem demonstrada por experimentos em camundongos cujos receptores antigênicos foram geneticamente deletados após o desenvolvimento de linfócitos maduros. Nesses camundongos, o número de linfócitos *naive* é rapidamente reduzido, mas as células de memória são mantidas.

Os marcadores fenotípicos mais confiáveis para as células T de memória parecem ser a expressão de superfície do receptor de IL-7 e uma proteína de função desconhecida chamada CD27, e a ausência de marcadores de células T *naive* e recém-ativadas (Tabela 2.3 Tabela 2.3). Nos seres humanos, a maioria das células T *naive* expressa a isoforma de 200 kDa da molécula de superfície CD45, denominada CD45RA (para "A-restrito") e a maior parte das células T de memória expressa a isoforma de 180 kDa de CD45, chamada CD45RO (Capítulo 2).

Tanto as células T de memória CD4⁺ quanto CD8⁺ são heterogêneas e podem ser subdivididas em subpopulações com base em suas propriedades de* homing *e em suas funções. As células T de **memória central** expressam o receptor de quimiocina CCR7 e a molécula de adesão L-selectina, e se dirigem principalmente para os linfonodos. Essas células têm capacidade limitada de executar as funções efetoras quando encontram o antígeno, mas passam por respostas proliferativas intensas e geram muitas células efetoras quando desafiadas pelo antígeno. As células T de **memória efetora,** por outro lado, não expressam CCR7 ou L-selectina e se dirigem para sítios periféricos, especialmente tecidos de mucosa. Com a estimulação antigênica, as células T de memória efetora produzem citocinas efetoras, tais como IFN-γ, ou rapidamente tornam-se citotóxicas, mas não proliferam muito. Essa subpopulação efetora, portanto, está preparada para uma resposta rápida a repetidas exposições a um microrganismo, embora a erradicação completa da infecção também possa exigir um grande número de efetores gerados a partir do *pool* de células T de memória central.

Algumas células T de memória migram para tecidos não linfoides e sobrevivem nesses tecidos por longos períodos. Essas **células de memória tecido-residentes** fornecem respostas rápidas à entrada recorrente de microrganismos nos tecidos. As células expressam altos níveis de CD69, a molécula que reduz a expressão do receptor de esfingosina 1-fosfato, S1PR1 (Capítulo 3). Como resultado, essas células não respondem a altas concentrações de S1P na linfa e no sangue, facilitando sua retenção nos tecidos.

As células T de memória também são heterogêneas em termos de perfis de citocinas. Por exemplo, algumas células T de memória $CD4^+$ podem ser derivadas de precursores antes do comprometimento com os fenótipos Th1, Th2 ou Th17 (Capítulo 10) e quando ativadas pela reexposição ao antígeno e citocinas, podem se diferenciar em qualquer uma dessas subpopulações. Outras células T de memória podem ser derivadas de efetores Th1, Th2 ou Th17 diferenciados e reter seus respectivos perfis de citocinas quando reativadas. Também podem existir células T de memória $CD8^+$ com algumas das características fenotípicas de CTLs diferenciados.

Declínio das Respostas das Células T

A eliminação do antígeno leva à contração da resposta das células T, e esse declínio é responsável pela manutenção da homeostasia no sistema imune. Existem vários motivos para o declínio da resposta. À medida que o antígeno é eliminado e a resposta imune inata associada à exposição ao antígeno diminui, os sinais que normalmente mantêm os linfócitos ativados vivos e proliferando não estão mais presentes. Como mencionado anteriormente, a coestimulação e os fatores de crescimento como a IL-2 estimulam a expressão das proteínas antiapoptóticas Bcl-2 e Bcl-X_L em linfócitos ativados e essas proteínas mantêm as células viáveis. Conforme o nível de coestimulação e a quantidade de IL-2 disponível diminuem, os níveis das proteínas antiapoptóticas nas células caem. Ao mesmo tempo, a privação do fator de crescimento ativa sensores de estresse celular (tais como a proteína "BH3-*only*" Bim), que desencadeiam a via mitocondrial de apoptose e não são mais contrabalanceados pelas proteínas antiapoptóticas (Fig. 15.8, Capítulo 15). O resultado líquido dessas alterações é que a maioria das células produzidas pela ativação morre e a geração de células recém-ativadas declina, de modo que o *pool* de linfócitos ativados pelo antígeno se contrai.

Tem havido muito interesse na possibilidade de que vários mecanismos reguladores contribuem para a contração normal das respostas imunes contra patógenos e outros antígenos estranhos. Tais mecanismos devem incluir os receptores inibidores CTLA-4 e PD-1, a apoptose induzida pelos receptores de morte da superfamília do TNF (tais como TNFRI e Fas) e as células T reguladoras. Entretanto, as principais funções desses mecanismos de inibição devem ser a prevenção de respostas imunes aos autoantígenos (Capítulo 15).

Resumo

- As respostas das células T são iniciadas por sinais gerados pelo reconhecimento de complexos MHC-peptídeos na superfície de uma APC pelo TCR e através dos sinais fornecidos ao mesmo tempo pelos coestimuladores expressos nas APCs.
- Os coestimuladores mais bem definidos são membros da família B7, os quais são reconhecidos por receptores da família CD28 expressos nas células T. A expressão dos coestimuladores B7 nas APCs é aumentada pelo encontro com microrganismos, fornecendo um mecanismo para a geração de respostas ideais contra patógenos infecciosos. Alguns membros da família CD28 inibem as respostas das células T e o resultado do reconhecimento antigênico pela célula T é determinado pelo equilíbrio entre o acoplamento de receptores de ativação e de inibição dessa família.
- As respostas das células T ao antígeno e coestimuladores incluem alterações na expressão de moléculas de superfície, síntese de citocinas e receptores de citocinas, proliferação celular e diferenciação em células efetoras e de memória.
- As moléculas de superfície, cuja expressão é induzida pela ativação das células T, incluem proteínas envolvidas na retenção de células T em órgãos linfoides, fatores de crescimento para as citocinas, moléculas efetoras e reguladoras, e moléculas que influenciam a migração das células T.
- Logo após a ativação, as células T produzem a citocina IL-2 e expressam altos níveis do IL-2R funcional. A IL-2 dirige a proliferação das células, o que pode resultar na expansão marcante de clones antígeno-específicos.
- Algumas células T ativadas podem se diferenciar em células de memória, que sobrevivem por longos períodos e respondem rapidamente ao desafio antigênico. A manutenção das células de memória é dependente de citocinas como a IL-7, que pode promover a expressão de proteínas antiapoptóticas e estimular o baixo nível de ciclagem. As células T de memória são heterogêneas e consistem em populações que diferem nas propriedades de migração e respostas funcionais.
- As respostas das células T declinam após a eliminação do antígeno, retornando, assim, o sistema para a situação de repouso.

O declínio acontece em grande parte porque os sinais para a manutenção da ativação dos linfócitos são também eliminados.

Referências Sugeridas

Ativação das Células T

Buchholz VR, Schumacher TN, Busch DH. T cell fate at the single-cell level. *Annu Rev Immunol*. 2016;34:65–92.

Grossman Z, Paul WE. Dynamic tuning of lymphocytes: physiological basis, mechanisms, and function. *Annu Rev Immunol*. 2015;33:677–713.

Huppa JB, Davis MM. The interdisciplinary science of T-cell recognition. *Adv Immunol*. 2013;119:1–50.

Iwasaki A, Medzhitov R. Control of adaptive immunity by the innate immune system. *Nat Immunol*. 2015;16:343–353.

Jenkins MK, Moon JJ. The role of naive T cell precursor frequency and recruitment in dictating immune response magnitude. *J Immunol*. 2012;188:4135–4140.

Coestimulação: B7, CD28 e Mais

Attanasio J, Wherry EJ. Costimulatory and coinhibitory receptor pathways in infectious disease. *Immunity*. 2016;44:1052–1068.

Chen L, Flies DB. Molecular mechanisms of T cell co-stimulation and co-inhibition. *Nat Rev Immunol*. 2013;13:227–242.

Esensten JH, Helou YA, Chopra G, et al. CD28 costimulation: from mechanism to therapy. *Immunity*. 2016;44:973–988.

Greenwald RJ, Freeman GJ, Sharpe AH. The B7 family revisited. *Annu Rev Immunol*. 2005;23:515–548.

Schildberg FA, Klein SR, Freeman GJ, Sharpe AH. Coinhibitory pathways in the B7-CD28 ligand-receptor family. *Immunity*. 2016;44:955–972.

Ward-Kavanagh LK, Lin WW, Sedy JR, Ware CF. The TNF Receptor superfamily in co-stimulating and co-inhibitory responses. *Immunity*. 2016;44:1005–1019.

Citocinas das Células T

Boyman O, Sprent J. The role of interleukin-2 during homeostasis and activation of the immune system. *Nat Rev Immunol*. 2012;12:180–190.

Huse M, Quann EJ, Davis MM. Shouts, whispers and the kiss of death: directional secretion in T cells. *Nat Immunol*. 2008;9:1105–1111.

Liao W, Lin JX, Leonard WJ. Interleukin-2 at the crossroads of effector responses, tolerance, and immunotherapy. *Immunity*. 2013;38:13–25.

Células T de Memória

Carbone FR. Tissue-resident memory T cells and fixed immune surveillance in nonlymphoid organs. *J Immunol*. 2015;195:17–22.

Mahnke YD, Brodie TM, Sallusto F, et al. The who's who of T-cell differentiation: human memory T-cell subsets. *Eur J Immunol*. 2013;43:2797–2809.

Mueller SN, Mackay LK. Tissue-resident memory T cells: local specialists in immune defence. *Nat Rev Immunol*. 2016;16:79–89.

Pepper M, Jenkins MK. Origins of CD4(+) effector and central memory T cells. *Nat Immunol*. 2011;12:467–471.

Sprent J, Surh CD. Normal T cell homeostasis: the conversion of naive cells into memory-phenotype cells. *Nat Immunol*. 2011;12:478–484.

CAPÍTULO 10

Diferenciação e Funções de Células T Efetoras $CD4^+$

VISÃO GERAL DAS RESPOSTAS IMUNES MEDIADAS POR CÉLULAS T CD4+

SUBPOPULAÇÕES DE CÉLULAS T CD4+ EFETORAS
- Propriedades das Subpopulações Th1, Th2 e Th17
- Desenvolvimento das Subpopulações Th1, Th2 e Th17

A SUBPOPULAÇÃO TH1
- Desenvolvimento de Células Th1
- Funções das Células Th1

A SUBPOPULAÇÃO TH2
- Desenvolvimento de Células Th2
- Funções das Células Th2

A SUBPOPULAÇÃO TH17
- Desenvolvimento de Células Th17
- Funções das Células Th17

FUNÇÕES DE OUTRAS SUBPOPULAÇÕES DE CÉLULAS T
- Células Tγδ
- Células T *Natural Killer*
- Células T Invariáveis Associadas à Mucosa (MAIT)

RESUMO

A defesa contra microrganismos mediada pelas células T é chamada *imunidade celular* (ou *imunidade mediada por células*). As células T podem conferir proteção contra patógenos intra e extracelulares, bem como auxiliar na eliminação de células tumorais. Historicamente, os imunologistas dividiram a imunidade adaptativa em imunidade humoral, que pode ser transferida a partir de um doador imunizado a um hospedeiro *naive* através dos anticorpos; e imunidade celular, que pode ser transferida não por anticorpos, e sim por linfócitos T. A imunidade humoral neutraliza e elimina microrganismos extracelulares e toxinas acessíveis aos anticorpos e estes intensificam a fagocitose de microrganismos extracelulares que, então, podem ser destruídos no interior dos fagócitos. Entretanto, os anticorpos não podem atacar microrganismos que sobrevivem dentro dos fagócitos e de outras células. A imunidade mediada por células T evoluiu para conferir defesa contra esse tipo de microrganismos. As células T também podem intensificar o *killing* de microrganismos que normalmente sobrevivem fora das células e que são ingeridos pelos fagócitos. Portanto, os defeitos na imunidade celular resultam em suscetibilidade aumentada à infecção por vírus e bactérias, que são microrganismos obrigatoriamente intracelulares, bem como algumas bactérias e fungos extracelulares eliminados por fagócitos. As reações mediadas pela célula T também são importantes na rejeição ao aloenxerto (Capítulo 17), na imunidade antitumoral (Capítulo 18) e nas doenças de hipersensibilidade (Capítulo 19).

As duas classes principais de células T, $CD4^+$ e $CD8^+$, atuam de formas distintas e complementares nas reações imunes mediadas por células (Fig. 10.1). Caracteristicamente, os linfócitos T $CD4^+$ efetores produzem as citocinas mediadoras de suas funções. Além disso, têm papel decisivo na eliminação fagócito-mediada de microrganismos, o que é a definição histórica da imunidade celular. As células T $CD4^+$ também ativam outros leucócitos, entre os quais os neutrófilos e eosinófilos, além de estimularem a produção de anticorpos pelas células B. As células $CD8^+$ efetoras são capazes de destruir células infectadas e células tumorais (*killing*), sendo responsáveis pela erradicação de microrganismos, tipicamente vírus, que sobrevivem e se replicam dentro de qualquer célula, inclusive de células não fagocíticas. Neste capítulo, descreveremos o papel das células T $CD4^+$ na eliminação dos microrganismos. Ao final, discutiremos algumas populações menos numerosas de células T cujas principais funções são mediadas por citocinas secretadas. A diferenciação e a função das células $CD8^+$ efetoras são discutidas no Capítulo 11.

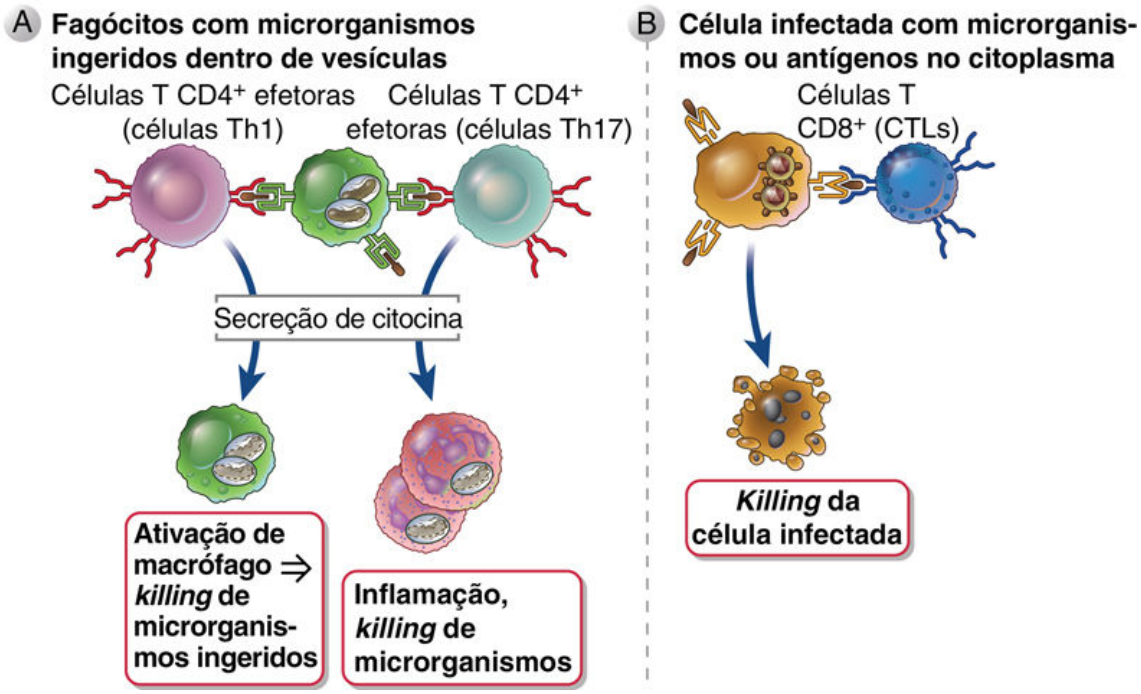


FIGURA 10.1 Papel das células T na erradicação de infecções. **A,** As células T $CD4^+$ reconhecem antígenos de microrganismos fagocitados e extracelulares, e produzem citocinas que recrutam e ativam fagócitos para matar os microrganismos. As células T $CD8^+$ também podem secretar algumas citocinas e participar de reações similares. **B,** Os linfócitos T citotóxicos (CTLs) $CD8^+$ reconhecem antígenos de microrganismos que residem no citoplasma de células infectadas e destroem estas células.

Visão Geral das Respostas Imunes Mediadas por Células T $CD4^+$

A sequência de eventos nas respostas das células T $CD4^+$ envolve a ativação inicial dessas células nos órgãos linfoides para gerar células efetoras e de memória, migração de células efetoras para sítios de infecção, e eliminação de patógenos infecciosos nestes sítios (Fig. 10.2). No Capítulo 9, descrevemos as etapas iniciais na ativação das células T. Neste capítulo, descreveremos a geração e as funções de células T $CD4^+$ efetoras.

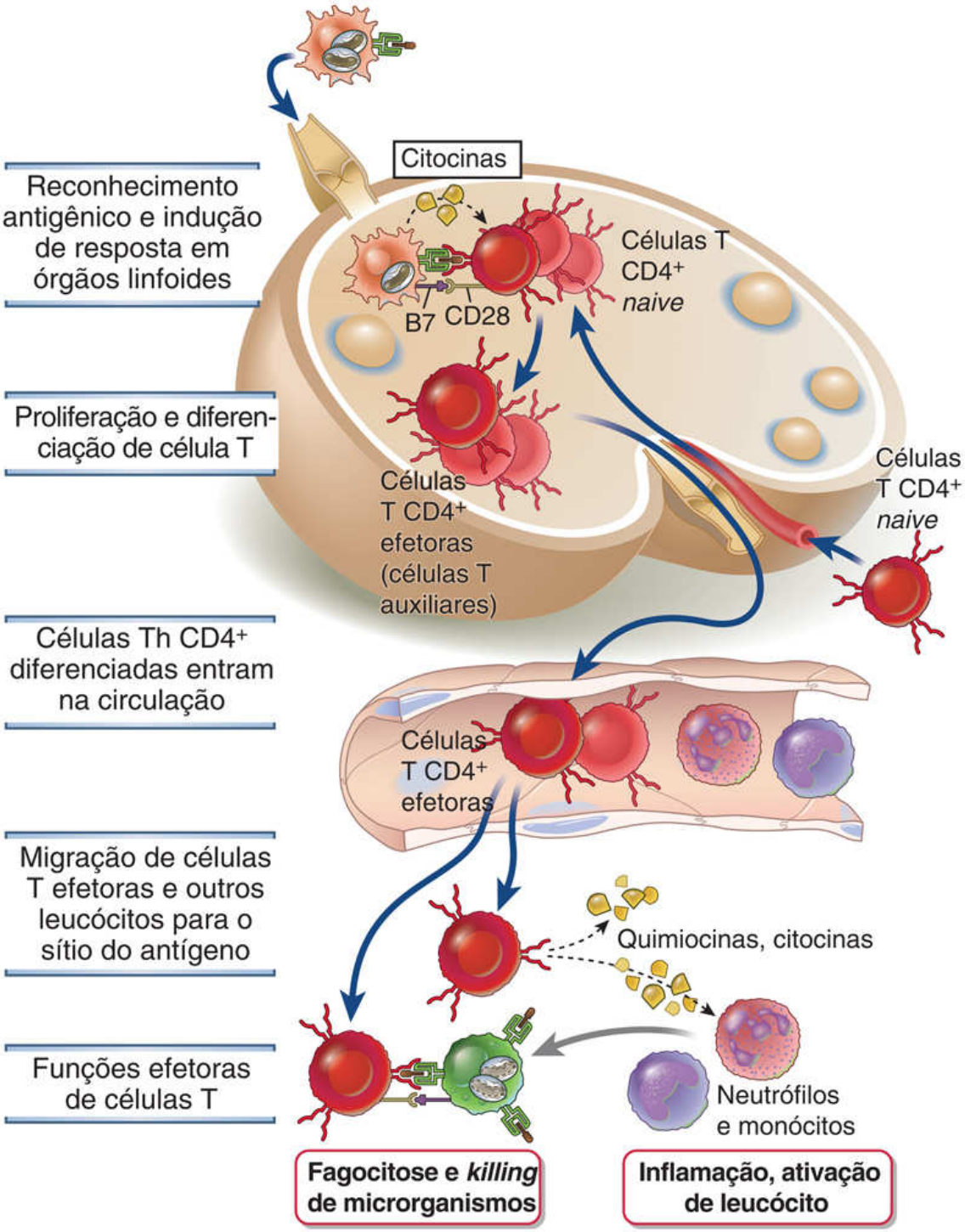


FIGURA 10.2 Etapas nas respostas imunes mediadas por célula T CD4$^+$.

As células T CD4$^+$ reconhecem peptídeos derivados de antígenos proteicos que são apresentados por células dendríticas nos órgãos linfoides periféricos. Os linfócitos T são estimulados a proliferar e se diferenciar em células efetoras (e de memória), as quais entram na

circulação e migram para sítios de infecção nos tecidos periféricos. Nesses tecidos, as células T efetoras reconhecem o antígeno e respondem secretando citocinas que recrutam mais leucócitos e ativam fagócitos para erradicarem a infecção.

As células T CD4⁺ efetoras são geradas nos órgãos linfoides secundários, e a maioria das células efetoras deixa esses órgãos e migra para sítios periféricos de infecção, onde atuam na eliminação de microrganismos. Essa migração de células T efetoras para os sítios infecciosos depende de moléculas de adesão endotelial e das quimiocinas expressas nesses locais (Capítulo 3). Embora a migração seja amplamente independente do antígeno, as células T que reconhecem o antígeno em tecidos extravasculares podem ser preferencialmente retidas nesses locais. Uma vez nos tecidos, as células T encontram antígenos microbianos apresentados por macrófagos e outras células apresentadoras de antígeno (APCs, do inglês, *antigen-presenting cells*). As células T que reconhecem antígenos de modo específico recebem sinais oriundos de seus receptores antigênicos, os quais aumentam a afinidade das integrinas por seus ligantes. Duas dessas integrinas, VLA-4 e VLA-5 (do inglês, *very late antigens-4 and -5*), ligam-se à fibronectina nas matrizes extracelulares. Uma terceira molécula de adesão, CD44, também altamente expressa em células T ativadas, liga-se ao hialuronano. Além disso, os receptores de quimiocina expressos em células T ativadas se ligam a quimiocinas produzidas nos tecidos. Como resultado destas interações adesivas e quimiotáticas, as células T efetoras antígeno-específicas que encontram o antígeno são preferencialmente retidas no sítio extravascular. As células T que não são específicas para o antígeno que migram para um sítio inflamatório podem morrer no tecido ou retornar para a circulação através dos vasos linfáticos. Algumas células T de memória também migram para os tecidos periféricos, usando as mesmas moléculas de adesão e receptores de quimiocina que as células efetoras.

Uma fração das células T CD4⁺ que são ativadas nos órgãos linfoides secundários não sai desses órgãos, mas migra para os folículos linfoides no interior desses órgãos, onde ajudam as células B a produzirem anticorpos de alta afinidade de isotipos diferentes. Dentre essas células T auxiliares, as mais bem definidas são as chamadas células T auxiliares foliculares (Tfh, do inglês, *T follicular helper*), cujo desenvolvimento, propriedades e funções nas respostas imunes são descritos no Capítulo 12.

Nas respostas imunes mediadas por células contra microrganismos fagocitados, as células T reconhecem especificamente antígenos

microbianos, porém são os fagócitos que de fato destroem os patógenos. Assim, as células T efetoras da linhagem $CD4^+$ associam o reconhecimento específico de microrganismos ao recrutamento e ativação de outros leucócitos que destroem os microrganismos. Este conceito fundamental foi apreciado pela primeira vez a partir de estudos sobre imunidade celular à bactéria intracelular *Listeria monocytogenes* (Fig. 10.3). Foi demonstrado que camundongos previamente infectados com uma dose baixa (subletal) de *Listeria* eram protegidos do desafio com doses maiores que eram letais para animais não previamente infectados. A proteção podia ser transferida para animais *naive* por meio dos linfócitos (posteriormente identificados como sendo linfócitos T) oriundos dos camundongos infectados, mas não por meio do soro, a fração fluida do sangue coagulado contendo os anticorpos. Esses resultados demonstraram que a proteção específica contra uma infecção bacteriana intracelular era mediada pelas células T. Entretanto, *in vitro*, as bactérias eram mortas não pelas células T dos animais imunizados, e sim pelos macrófagos, enfatizando o papel central dos macrófagos na eliminação microbiana. Esses estudos estabeleceram que a defesa contra microrganismos intracelulares requeria interações cooperativas entre células T antígeno-específicas e fagócitos microbicidas, e hoje sabemos que esse tipo de interação é um componente importante da imunidade mediada por células.

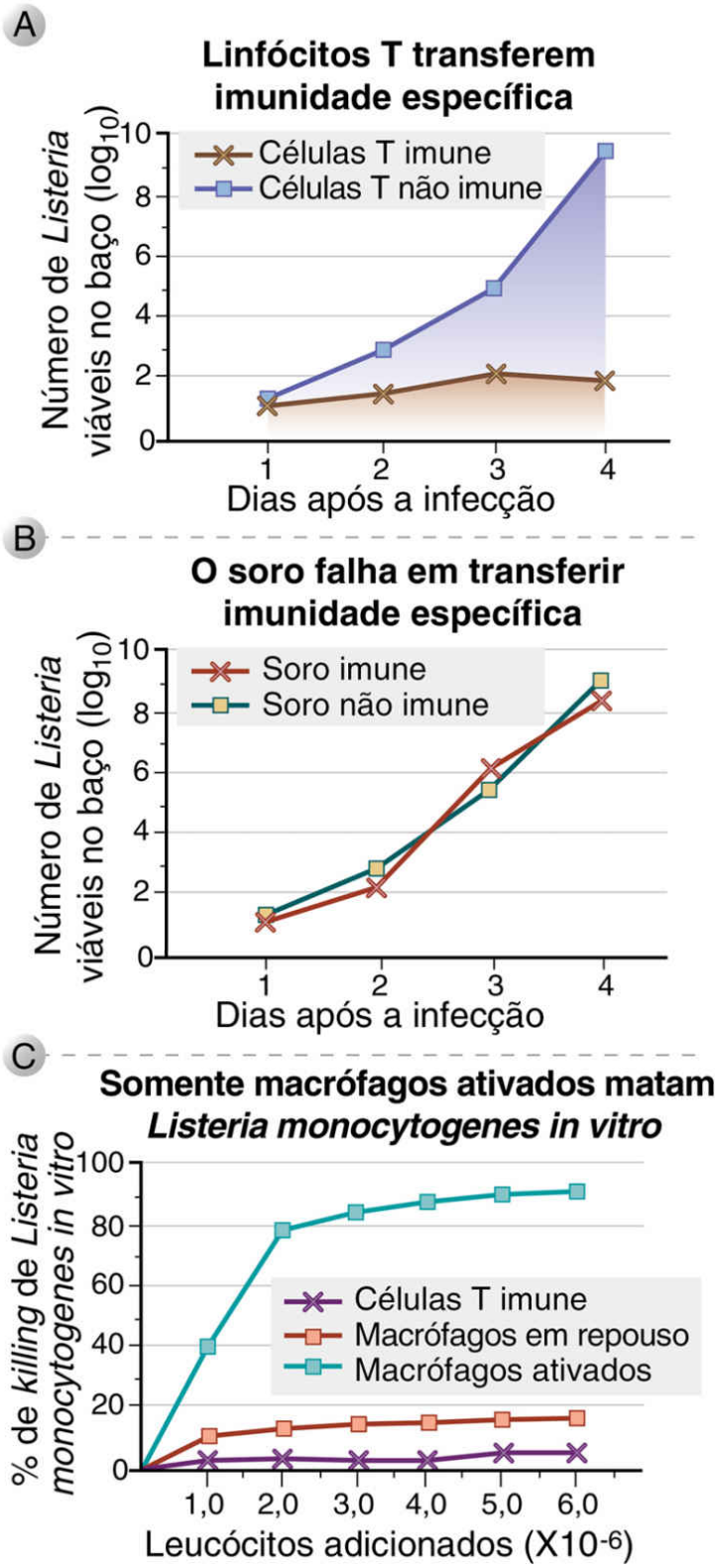


FIGURA 10.3 **Imunidade celular a *Listeria monocytogenes*.** A imunidade a *L. monocytogenes* é medida por meio da inibição do crescimento bacteriano em baços de animais inoculados com uma

dose conhecida de bactérias viáveis. Essa imunidade pode ser transferida para camundongos normais por linfócitos T **(A)** e não pelo soro **(B)** de camundongos singênicos previamente imunizados com *L. monocytogenes* morta ou doses baixas dessa bactéria. Em um ensaio *in vitro* de imunidade mediada por células, as bactérias na verdade são mortas por macrófagos ativados e não por células T **(C)**.

A ingesta e eliminação de microrganismos por fagócitos é uma das principais reações da imunidade inata, porém as células T intensificam significativamente essa função dos fagócitos. Conforme discutimos no Capítulo 4, os fagócitos reconhecem microrganismos e são ativados por ligantes microbianos, além de serem capazes de destruir vários microrganismos. No entanto, muitos patógenos infecciosos evoluíram para resistir a este mecanismo de imunidade inata e conseguem sobreviver e até se multiplicar dentro dos macrófagos. Nessas situações, as células T reconhecem antígenos proteicos microbianos e recrutam e ativam fagócitos, de modo a capacitá-los a erradicar infecções que podem não ser combatidas apenas pela imunidade inata. As células T $CD4^+$ efetoras ativam fagócitos via moléculas de superfície, principalmente CD40-ligante (CD40L), e citocinas secretadas. Mais adiante, neste mesmo capítulo, veremos como esses sinais cooperam, ao discutirmos a ativação de macrófagos.

A inflamação, que consiste no recrutamento e ativação de leucócitos, acompanha muitas das reações dos linfócitos T $CD4^+$ e pode danificar os tecidos normais. Essa inflamação dependente de célula T atua como um mecanismo de defesa antimicrobiana, mas também pode ser lesiva aos tecidos. Quando uma reação de célula T causa lesão, é chamada **hipersensibilidade do tipo tardio (DTH; do inglês, *delayed-type hypersensitivity*)**, em que o termo "hipersensibilidade" se refere a uma resposta imune excessiva ou danosa. A DTH frequentemente ocorre conjuntamente à imunidade celular protetora contra microrganismos, podendo ser causa de grande parte da patologia associada a certos tipos de infecção e doenças imunológicas crônicas (Capítulos 16 e 19).

Como as funções das células T $CD4^+$ são mediadas em grande parte por citocinas, tem havido interesse considerável pela definição destas citocinas, pelas células que as produzem, e pelo modo como atuam. Uma das descobertas mais importantes em Imunologia é a identificação das populações de células T $CD4^+$ efetoras que produzem conjuntos de citocinas distintos e, portanto, realizam funções distintas. Começaremos com uma descrição das principais propriedades destas subpopulações e,

em seguida, descreveremos o desenvolvimento e as funções de cada população.

Subpopulações de Células T CD4$^+$ Efetoras

As três subpopulações principais de células T CD4$^+$ efetoras, chamadas Th1, Th2 e Th17, atuam na defesa do hospedeiro contra tipos distintos de patógenos infecciosos e estão envolvidas em diferentes tipos de lesão tecidual em doenças imunológicas (Fig. 10.4). A quarta subpopulação, a de células T auxiliares foliculares, não é discutida neste capítulo (Capítulo 12). As células T reguladoras constituem outra população distinta de células T CD4$^+$. Não são células efetoras e, em vez disso, atuam controlando as reações imunes a antígenos próprios e estranhos, e serão descritas no Capítulo 15 no contexto de tolerância imunológica.

Células T efetoras	Citocinas definidoras	Principais células-alvo	Principais reações imunes	Defesa do hospedeiro	Papel na doença
Th1	IFN-γ	Macrófagos	Ativação de macrófago	Patógenos intracelulares	Autoimunidade; inflamação crônica
Th2	IL-4 IL-5 IL-13	Eosinófilos	Ativação de eosinófilos e mastócitos; ativação alternativa de macrófagos	Helmintos	Alergia
Th17	IL-17 IL-22	Neutrófilos	Recrutamento e ativação de neutrófilos	Bactérias e fungos extracelulares	Autoimunidade; inflamação
Tfh	IL-21 (e IFN-γ ou IL-4	Células B	Produção de anticorpos	Patógenos extracelulares	Autoimunidade (autoanticorpos)

FIGURA 10.4 Propriedades das principais subpopulações de células T auxiliares CD4⁺.
As células T CD4⁺ *naive* podem se diferenciar em subpopulações distintas de células efetoras em resposta ao antígeno, coestimuladores e citocinas. As principais funções dessas subpopulações e seus papéis na doença são resumidos. As células Tfh são discutidas no Capítulo 12.

Propriedades das Subpopulações Th1, Th2 e Th17

Há muitos anos, foi constatado que as respostas do hospedeiro a diferentes infecções variavam bastante, assim como as reações em doenças imunológicas diferentes. Por exemplo, a reação imune a bactérias que sobrevivem em fagócitos, como *Mycobacterium tuberculosis*, é dominada por macrófagos ativados, enquanto a reação a parasitas helmínticos consiste na produção do anticorpo imunoglobulina E (IgE) e ativação de eosinófilos. Além disso, em muitas doenças autoimunes crônicas, o dano tecidual é causado por inflamação com acúmulo de neutrófilos e macrófagos, enquanto nos distúrbios alérgicos, as lesões contêm eosinófilos em abundância e outros leucócitos. A constatação de que todas estas reações imunológicas fenotipicamente diversas dependem das células T CD4⁺ levantou uma questão evidente: como as mesmas células CD4⁺ deflagram respostas tão diferentes? A resposta, como sabemos

agora, é que as células T $CD4^+$ consistem em subpopulações de células efetoras que produzem diferentes conjuntos de citocinas, deflagram reações bastante diversas e estão envolvidas na defesa do hospedeiro contra microrganismos diferentes, bem como em diferentes tipos de doenças imunológicas. As duas primeiras subpopulações descobertas foram chamadas células T auxiliares de tipos 1 e 2, ou Th1 e Th2. A subpopulação Th17, assim chamada por ter como citocina característica a interleucina-17 (IL-17), foi identificada depois de muitos anos como sendo as células T responsáveis por certas doenças inflamatórias mediadas pela célula T $CD4^+$ que não poderiam ser atribuídas às subpopulações Th1 e Th2. O papel das células Th17 na defesa do hospedeiro contra infecções foi estabelecida após sua descoberta.

As características definidoras das subpopulações diferenciadas de células efetoras são as citocinas que estas produzem, e isso está relacionado aos fatores de transcrição que expressam. Os fatores de transcrição são responsáveis pela produção de diferentes citocinas por essas subpopulações, bem como a expressão de diferentes receptores de quimiocinas e outras proteínas. Essas características de cada subpopulação são descritas a seguir.

As citocinas de assinatura produzidas pelas principais subpopulações de células T $CD4^+$ são o interferon (IFN)-γ, para as células Th1; IL-4, IL-5 e IL-13, para as células Th2; e IL-17 e IL-22, para as células Th17 (Fig. 10.4). As citocinas produzidas por essas subpopulações de células T determinam suas funções efetoras e seus papéis nas doenças. Algumas das citocinas produzidas por cada subpopulação também estimulam o desenvolvimento e a expansão dessa subpopulação, bem como inibem outras células efetoras, contribuindo assim para a amplificação de cada tipo de resposta de célula T auxiliar, um processo chamado polarização (discutido adiante). A produção de conjuntos diferentes de citocinas é iniciada pela expressão de fatores de transcrição subpopulação-específicos, e sustentada por modificações epigenéticas de *loci* gênicos de citocinas específicos. Estes são descritos adiante.

As células Th1, Th2 e Th17 têm, cada uma, padrões distintos de* homing*, em grande parte por expressarem receptores de quimiocinas e moléculas de adesão que as direcionam para migrar rumo a diferentes sítios de infecção. Discutimos o controle da migração do linfócito no Capítulo 3. As células Th1, mas não as células Th2, expressam níveis altos dos receptores de quimiocina CXCR3 e CCR5, os quais se ligam às quimiocinas produzidas nos tecidos durante as respostas imunes inatas. Portanto, as células Th1 tendem a ser abundantes nos sítios de infecção onde os agentes infecciosos

deflagram reações imunes inatas fortes; esses agentes incluem muitas bactérias e vírus. As células Th1 também expressam níveis elevados de ligantes para E-selectina e P-selectina, os quais auxiliam a migração destas células para os sítios de inflamação intensa (onde as selectinas são expressas no endotélio). Em contraste, as células Th2 expressam receptores de quimiocina CCR3, CCR4 e CCR8, os quais reconhecem quimiocinas altamente expressas em sítios de infecção por helmintos ou de reações alérgicas, em particular nos tecidos de mucosa. Sendo assim, as células Th2 tendem a migrar para esses tecidos. As células Th17 expressam CCR6 que se liga à quimiocina CCL20, a qual é produzida por diversas células teciduais e por macrófagos em algumas infecções bacterianas e fúngicas.

Apesar de acreditar por muitos anos que as células Th1 e Th2 ajudavam os linfócitos B a produzirem diferentes anticorpos, hoje está claro que, conforme afirmado antes, a maioria dessas células efetoras diferenciadas saem dos órgãos linfoides onde são geradas e migram para os sítios periféricos de infecção. As respostas de anticorpo se desenvolvem principalmente nos órgãos linfoides secundários e, em particular, nos centros germinativos, onde as células T e B antígeno-específicas interagem. As células T $CD4^+$ que permanecem nos órgãos linfoides secundários para auxiliar os linfócitos B não são células Th1 e Th2 clássicas, e sim células Tfh que produzem muitas das citocinas produzidas pelas células Th1 e Th2 (Capítulo 12).

Doenças inflamatórias distintas são causadas por reações excessivas de diferentes subpopulações de células T auxiliares. Em geral, as células Th1 e Th17 exercem papéis proeminentes nas doenças autoimunes associadas à inflamação, enquanto as reações alérgicas são dominadas pelas células Th2.

As populações de células Th1, Th2 e Th17 são identificáveis nas reações imunes e têm propiciado um valioso conhecimento acerca das respostas imunes. Mesmo assim, existem algumas ressalvas importantes com relação à ideia de que as células T $CD4^+$ efetoras podem ser classificadas em subpopulações distintas com base em critérios definidos. Muitas células T $CD4^+$ efetoras produzem várias combinações de citocinas ou apenas algumas das citocinas características de uma subpopulação em particular, e não são prontamente classificáveis em populações separáveis. Exemplificando, em muitas reações inflamatórias, pode haver células T individuais produtoras de IFN-γ (característico de células Th1) e também de IL-17 (característica de células Th17). Ao contrário, algumas células podem produzir citocinas que não são características de nenhuma subpopulação (p. ex.: IL-9) ou que são apenas algumas das citocinas

produzidas por uma subpopulação em particular. Esse restrito perfil de citocinas levou a expansão da nomenclatura que descreve estas populações (p. ex.: Th9, Th22 e assim por diante). Não é sabido se as populações com padrões mistos ou limitados de citocina são intermediárias no desenvolvimento das células efetoras polarizadas clássicas, ou se são em si próprias populações fixas.

Também está claro que algumas dessas células T efetoras podem se converter a partir de um perfil de citocinas em outro por meio de alterações nas condições de ativação. É provável que após a modificação epigenética de um *locus* gênico de citocina, essa citocina continue sendo produzida. Entretanto, a extensão e a significância da plasticidade ou estabilidade das células T efetoras diferenciadas continuam sendo tópicos de pesquisa ativa.

Embora as células T $CD4^+$ efetoras sejam consideradas fonte de muitas citocinas nas respostas imunes adaptativas protetoras e patológicas, as mesmas citocinas podem ser produzidas por outros tipos celulares, como as células T γδ e as células linfoides inatas. Por exemplo, em algumas reações inflamatórias dominadas pela IL-17, as células Th17 $CD4^+$ correspondem a apenas cerca de 1/3 das células produtoras de IL-17, com o restante sendo outras populações celulares.

Desenvolvimento das Subpopulações Th1, Th2 e Th17

As células Th1, Th2 e Th17 diferenciadas se desenvolvem a partir de linfócitos T CD4⁺* naive*, principalmente em resposta às citocinas presentes no início das respostas imunes. O processo de desenvolvimento de células efetoras envolve múltiplas etapas. Os sinais recebidos pelas células T a partir das APCs e de outras células no sítio de resposta imune iniciam a conversão das células T antígeno-estimuladas em células efetoras. As células efetoras em desenvolvimento se tornam progressivamente comprometidas com um perfil de produção de citocinas em particular, e as citocinas amplificam essas vias de diferenciação. O resultado líquido é o acúmulo progressivo de populações de células T produtoras de diferentes conjuntos de citocinas.

Existem vários aspectos gerais relevantes da diferenciação das subpopulações de células T.

- ***As citocinas que dirigem o desenvolvimento de subpopulações de células T CD4⁺ são produzidas pelas APCs (primariamente,***

células dendríticas e macrófagos) e outras células imunes (como células NK e mastócitos) presentes no órgão linfoide onde a resposta imune é iniciada. As células dendríticas que encontram microrganismos e exibem antígenos microbianos são ativadas a produzirem citocinas (bem como coestimuladores), como parte das respostas imunes inatas aos microrganismos (Capítulos 4 e 9). Microrganismos diferentes podem estimular células dendríticas a produzirem conjuntos distintos de citocinas, talvez porque os microrganismos são reconhecidos por diferentes sensores microbianos nas células. Outras células da imunidade inata, como as células NK e os mastócitos, também produzem citocinas que influenciam o padrão de desenvolvimento da subpopulação de células T.

- ***Outros estímulos que não as citocinas também podem influenciar o padrão de diferenciação da célula T auxiliar.*** Evidências experimentais indicam que a afinidade do receptor da célula T pelo antígeno, a quantidade de antígeno e a natureza da APC determinam a subpopulação que se desenvolve após o reconhecimento do antígeno. O papel desses fatores nas respostas imunes fisiológicas não está claro. A constituição genética do hospedeiro é um determinante importante do padrão de diferenciação da célula T. Algumas linhagens consanguíneas murinas desenvolvem respostas Th2 aos mesmos microrganismos que estimulam a diferenciação Th1 na maioria das outras linhagens. As linhagens murinas que desenvolvem respostas Th2-dominantes são suscetíveis a infecções por microrganismos intracelulares (Capítulo 16). É possível, ainda que não esteja comprovado, que as pessoas sejam diferentes quanto a sua propensão a montar respostas Th1, Th2 ou Th17 baseadas em seus genes herdados.
- ***Os perfis de citocinas distintos de populações celulares diferenciadas são controlados por fatores de transcrição particulares que ativam a expressão dos genes de citocina e por modificações cromatínicas que afetam a acessibilidade desses fatores aos promotores e elementos reguladores dos genes das citocinas.*** Os próprios fatores de transcrição são ativados ou induzidos por sinais oriundos de receptores antigênicos, receptores de imunidade inata, coestimuladores e receptores de citocina. Cada subpopulação expressa seu próprio conjunto característico de fatores de transcrição. Conforme as

subpopulações vão se tornando cada vez mais polarizadas, os *loci* gênicos codificadores das citocinas de assinatura dessas subpopulações sofrem modificações nas histonas (como alterações na metilação e acetilação) e passam por outros eventos de remodelamento da cromatina, de modo que esses *loci* permanecem acessíveis à RNA polimerase e aos fatores de transcrição. Entretanto, os *loci* de outras citocinas (aquelas não produzidas por essa subpopulação) permanecem em estado de cromatina inacessível. Desse modo, os genes de citocinas característicos de uma subpopulação em particular se tornam fixos em um estado antígeno-responsivo, enquanto os genes codificadores das citocinas não produzidas por esta subpopulação permanecem inativos. Essas alterações epigenéticas são herdadas na progênie das células em proliferação, garantindo, assim, que as células T ativadas se tornem comprometidas com uma via específica.

- ***Cada subpopulação de células efetoras diferenciadas produz citocinas que promovem seu próprio desenvolvimento e podem suprimir o desenvolvimento de outras subpopulações.*** Essa característica do desenvolvimento das subpopulações de células T fornece um mecanismo de amplificação poderoso. Por exemplo, o IFN-γ secretado pelas células Th1 promove mais diferenciação Th1 e inibe a geração de células Th2 e Th17. Similarmente, a IL-4 produzida pelas células Th2 promove diferenciação em Th2. Portanto, uma vez que a resposta imune se desenvolve ao longo de uma via efetora, torna-se cada vez mais polarizada nessa direção, sendo que a polarização mais extrema é vista em infecções crônicas ou na exposição crônica a antígenos ambientais, quando a imunoestimulação é prolongada.
- ***A diferenciação de cada subpopulação é induzida pelos tipos de microrganismos que a subpopulação melhor consegue combater.*** Exemplificando, o desenvolvimento de células Th1 é dirigido por microrganismos intracelulares contra os quais a principal defesa é Th1-mediada. Em contraste, o sistema imune responde aos parasitas helmínticos desenvolvendo células Th2 que produzem citocinas importantes para o combate dos helmintos. Similarmente, a respostas Th17 são induzidas por algumas bactérias e fungos, e são mais efetivas na defesa contra esses microrganismos. A geração e as funções efetoras dessas células T diferenciadas são uma excelente ilustração do conceito de especialização da imunidade adaptativa, o qual se refere à habilidade do sistema

imune de responder a diferentes microrganismos de formas que são ideais para combater estes microrganismos.

Com essa introdução, prosseguiremos para uma descrição do desenvolvimento e das funções de cada subpopulação.

A Subpopulação Th1

A subpopulação Th1 produtora de IFN-γ é induzida por microrganismos que são ingeridos e que evoluíram para sobreviver e se replicar nos fagócitos. Trata-se de principal população de células T efetoras na defesa do hospedeiro mediada por fagócitos. As células Th1 foram a primeira subpopulação de células T auxiliares definida e que comprovadamente medeiam a imunidade celular contra patógenos que sobrevivem no interior de fagócitos.

Desenvolvimento de Células Th1

A diferenciação em Th1 é dirigida principalmente pelas citocinas IL-12 e IFN-γ, e ocorre em resposta aos microrganismos que ativam células dendríticas, macrófagos e células NK (Fig. 10.5). A diferenciação das células T $CD4^+$ antígeno-ativadas em células Th1 efetoras é estimulada por muitas bactérias intracelulares, como *Listeria* e micobactéria, e por alguns parasitas, como *Leishmania*, todos microrganismos que infectam células dendríticas e macrófagos. A diferenciação em Th1 também é estimulada por vírus e antígenos proteicos administrados com adjuvantes fortes. Uma característica comum dessas infecções e condições de imunização é a deflagração de reações imunes inatas associadas à produção de certas citocinas, incluindo IL-12, IL-18 e interferons do tipo I. Todas essas citocinas promovem desenvolvimento de Th1. Dentre essas citocinas, a IL-12 é provavelmente a mais potente. A IL-18 sinergiza com a IL-12, enquanto os interferons de tipo I podem ser importantes para a diferenciação de Th1 em resposta a infecções virais, especialmente em seres humanos. Muitos microrganismos estimulam as células NK a produzirem IFN-γ que, em si, é uma citocina fortemente indutora de Th1 e também atua nas células dendríticas e macrófagos induzindo mais secreção de IL-12. Depois que as células Th1 se desenvolveram, passam a secretar IFN-γ que promove mais diferenciação Th1 e, desse modo, amplifica a reação. Além disso, o IFN-γ inibe a diferenciação de células T $CD4^+$ *naive* nas subpopulações Th2 e Th17, promovendo assim a polarização da resposta imune em uma direção. As células T podem intensificar ainda mais a produçaõ de citocinas pelas células dendríticas e macrófagos por meio do engajamento do CD40L, presente nas células T ativadas, ao CD40, presente nas APCs, bem como estimulando a secreção de IL-12.

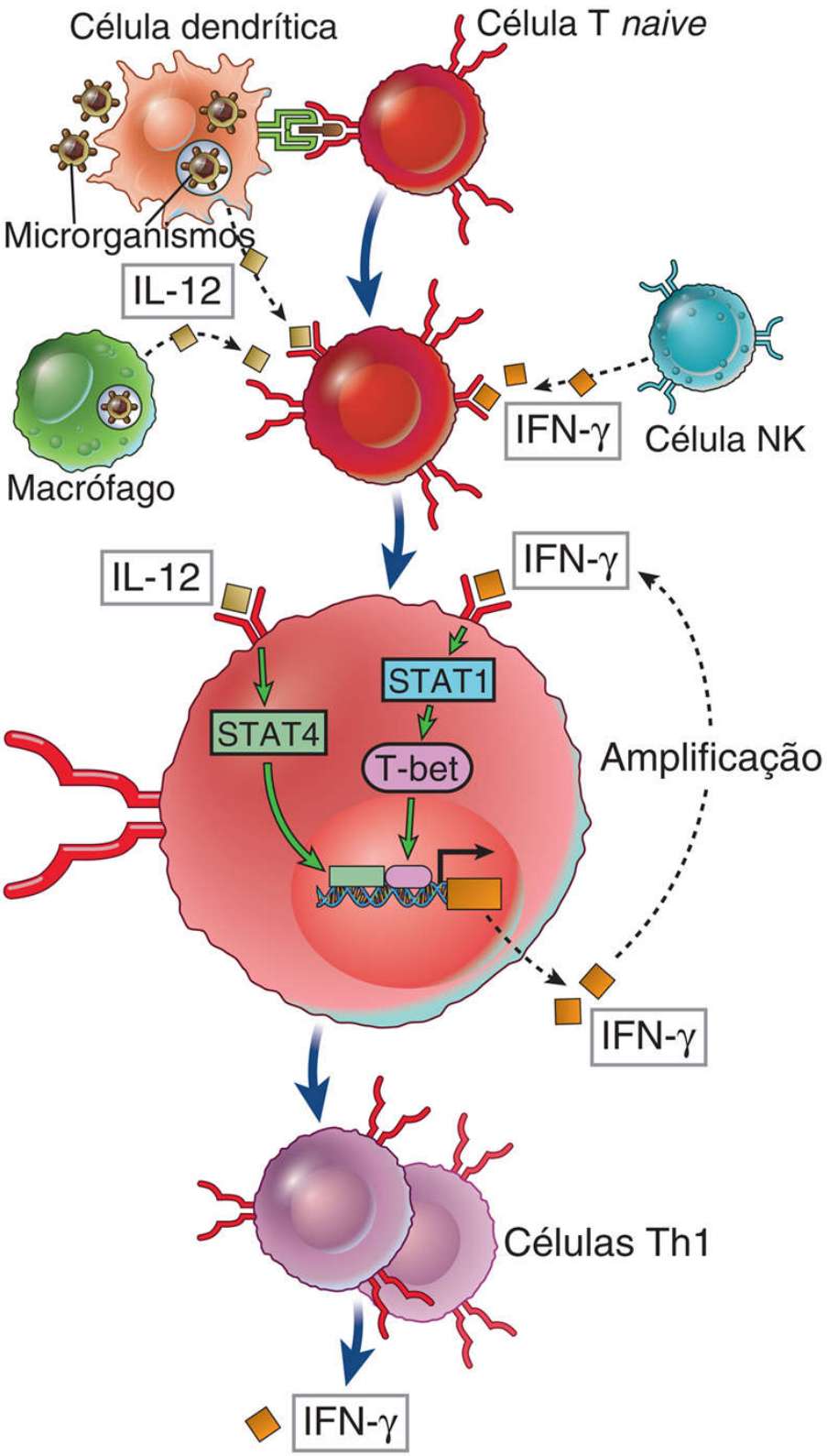


FIGURA 10.5 Desenvolvimento de células Th1.
A IL-12 produzida pelas células dendríticas e macrófagos em resposta aos microrganismos, incluindo microrganismos

intracelulares, e o IFN-γ produzido pelas células NK (tudo parte da resposta imune inata inicial aos microrganismos) ativam fatores de transcrição T-bet, STAT1 e STAT4, que estimulam a diferenciação de células T $CD4^+$ *naive* em células da subpopulação Th1. O IFN-γ produzido pelas células Th1 amplifica esta resposta e inibe o desenvolvimento de células Th2 e Th17.

IFN-γ e IL-12 estimulam a diferenciação Th1 induzindo e ativando os fatores de transcrição T-bet, STAT1 e STAT4 (Fig. 10.5). T-bet, membro da família T-box de fatores de transcrição, é induzido em células T $CD4^+$ *naive* em resposta ao antígeno e ao IFN-γ. O IFN-γ também ativa o fator de transcrição STAT1 que, por sua vez, estimula a expressão de T-bet. Este, então, promove produção de IFN-γ por meio de uma combinação de ativação transcricional direta do gene *IFNG* e de indução de remodelamento cromatínico da região do promotor de IFN-γ. A habilidade do IFN-γ de estimular a expressão de T-bet e a habilidade de T-bet de intensificar a transcrição de IFN-γ estabelecem uma alça de amplificação positiva que conduz à diferenciação das células T no sentido do fenótipo Th1. A IL-12 contribui para o comprometimento com Th1 ligando-se aos receptores presentes em células T $CD4^+$ antígeno-estimuladas e ativando o fator de transcrição STAT4, que intensifica ainda mais a produção de IFN-γ.

Funções das Células Th1

A principal função das células Th1 é ativar os macrófagos para que estes ingiram e destruam os microrganismos (Fig. 10.6). A mesma reação de ativação de macrófago mediada por Th1 está envolvida na DTH lesiva, que é um componente de muitas doenças inflamatórias, e na inflamação granulomatosa, que é tipicamente tuberculosa, sendo vista também em outros distúrbios infecciosos e inflamatórios (Capítulo 19).

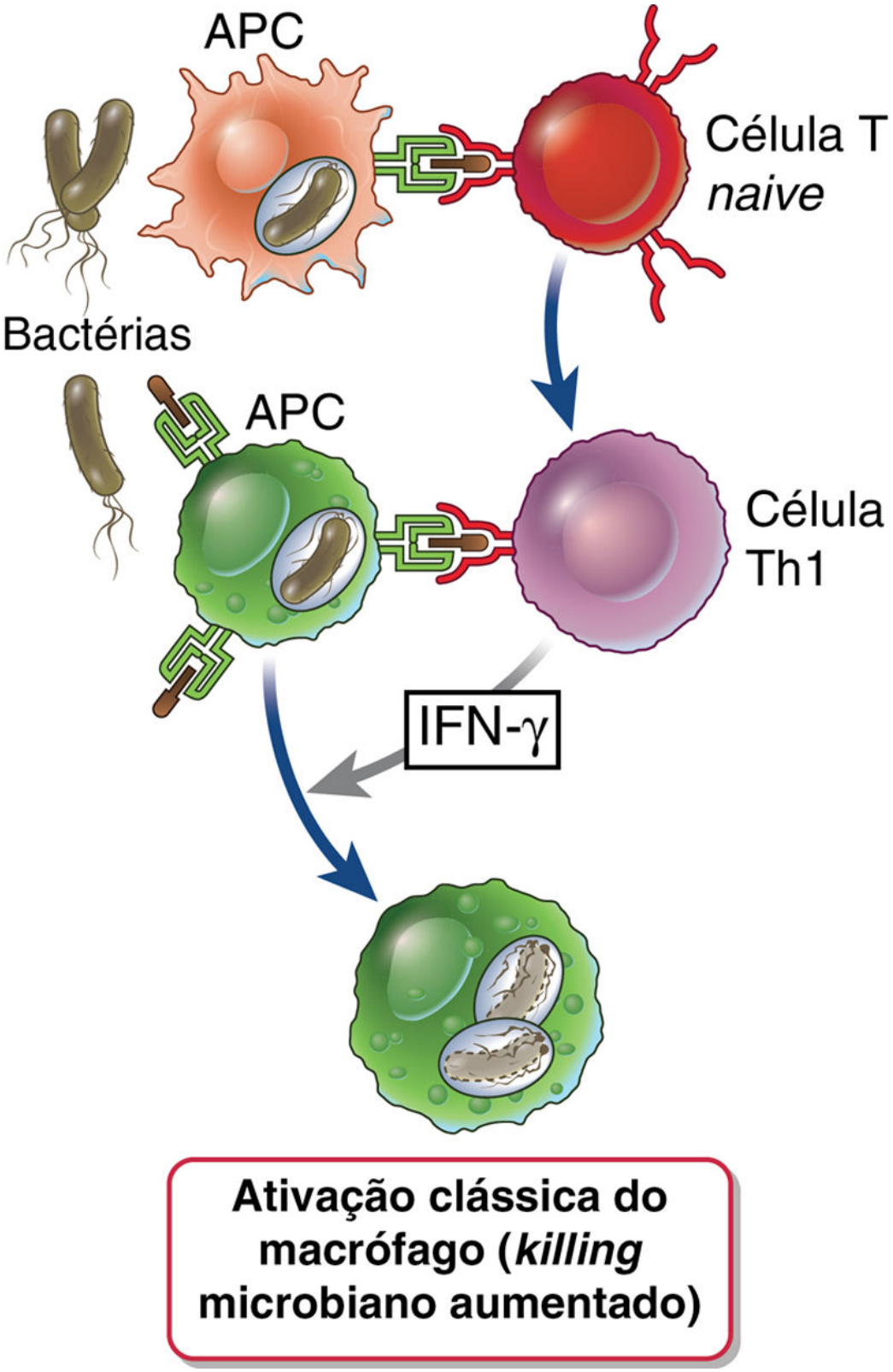


FIGURA 10.6 Funções das células Th1.
As células Th1 secretam IFN-γ que atua em macrófagos para aumentar a fagocitose e a destruição de microrganismos contidos

nos fagolisossomos. As células Th1 também produzem TNF, que ativa neutrófilos e promove inflamação (*não mostrado*).

Antes de discutir a ativação dos macrófagos e como estes destroem microrganismos, descreveremos as propriedades do IFN-γ, a citocina responsável pela maioria das funções especializadas das células Th1.

Interferon-γ

O IFN-γ é a principal citocina ativadora de macrófagos. O IFN-γ também é chamado interferon imune ou interferon do tipo II. Embora seu nome seja compartilhado com os interferons antivirais de tipo I, não é uma citocina antiviral potente e atua sobretudo como ativador de células efetoras do sistema imune.

O IFN-γ é uma proteína homodimérica pertencente à família de citocinas do tipo II (Capítulo 7). Em adição às células Th1 $CD4^+$, as células NK e as células T $CD8^+$ também produzem IFN-γ. As células NK secretam IFN-γ em resposta aos ligantes ativadores presentes na superfície de células infectadas ou estressadas do hospedeiro (Capítulo 4), ou em resposta à IL-12. Neste contexto, o IFN-γ atua como mediador da imunidade inata. Na imunidade adaptativa, as células T produzem IFN-γ em resposta ao reconhecimento antigênico, e a produção é intensificada pela IL-12 e pela IL-18.

O receptor para IFN-γ é composto por dois polipeptídeos estruturalmente homólogos pertencentes à família do receptor de citocinas de tipo II, chamados IFNγR1 e IFNγR2. O IFN-γ se liga e induz a dimerização das duas cadeias do receptor. Isso leva à ativação das Janus quinases JAK 1 e JAK 2 associadas e, por fim, resulta na fosforilação e dimerização de STAT1 que, por sua vez, estimula a transcrição de vários genes (Capítulo 7). Os genes induzidos pelo IFN-γ codificam muitas moléculas diferentes que medeiam as atividades biológicas dessa citocina (descritas a seguir).

As funções do IFN-γ são importantes na imunidade celular contra microrganismos intracelulares (Fig. 10.6).

- ***O IFN-γ ativa os macrófagos a destruírem microrganismos fagocitados.*** A ativação do macrófago resultando em atividade microbicida aumentada é chamada **ativação clássica do macrófago**, para contrastar com a via de ativação alternativa, a

qual é induzida pelas citocinas Th2. Esses tipos de ativação de macrófagos são descritos de forma mais detalhada adiante.

- ***O IFN-γ promove a diferenciação das células T CD4⁺ na subpopulação Th1 e inibe o desenvolvimento das células Th2 e Th17.*** Essas ações do IFN-γ servem para amplificar a resposta Th1 e foram descritas anteriormente.
- ***O IFN-γ estimula a expressão de várias proteínas diferentes que contribuem para uma intensificada apresentação antigênica e ativação da célula T*** (Fig. 6.9). Essas proteínas incluem moléculas do complexo principal de histocompatibilidade (MHC, do inglês, *major histocimpatibility complex*); muitas proteínas envolvidas no processamento antigênico, incluindo componentes do proteassomo; e os coestimuladores B7 nas APCs.
- ***O IFN-γ atua nas células B promovendo a mudança para certas subclasses de IgG, notavelmente IgG2a ou IgG2c (em camundongos), e inibindo a mudança para isótipos IL-4-dependentes, como a IgE.*** As subclasses de IgG induzidas por IFN-γ se ligam a receptores Fcγ presentes nos fagócitos e ativam o complemento, e ambos os mecanismos promovem a fagocitose de microrganismos opsonizados (Capítulo 13). Assim, o IFN-γ induz respostas de anticorpos que também participam na eliminação fagócito-mediada de microrganismos, em conjunto com os efeitos diretos desta citocina na ativação de macrófago. Essa ação do IFN-γ sobre as células B é estabelecida em camundongos e não em seres humanos. Do mesmo modo, como mencionado antes, a fonte de IFN-γ para ativação da célula B é principalmente as células Tfh produtoras dessa citocina.

As ações do IFN-γ resultam em ingesta aumentada de microrganismos e destruição dos patógenos ingeridos. Os indivíduos com mutações de perda de função herdadas no receptor de IFN-γ, receptor de IL-12 ou em suas moléculas sinalizadoras (como STAT1) são suscetíveis a infecções com microrganismos que podem sobreviver no interior dos macrófagos, como as micobactérias, devido à ativação defeituosa macrófago-mediada da célula T e ao *killing* dos microrganismos (Capítulo 21).

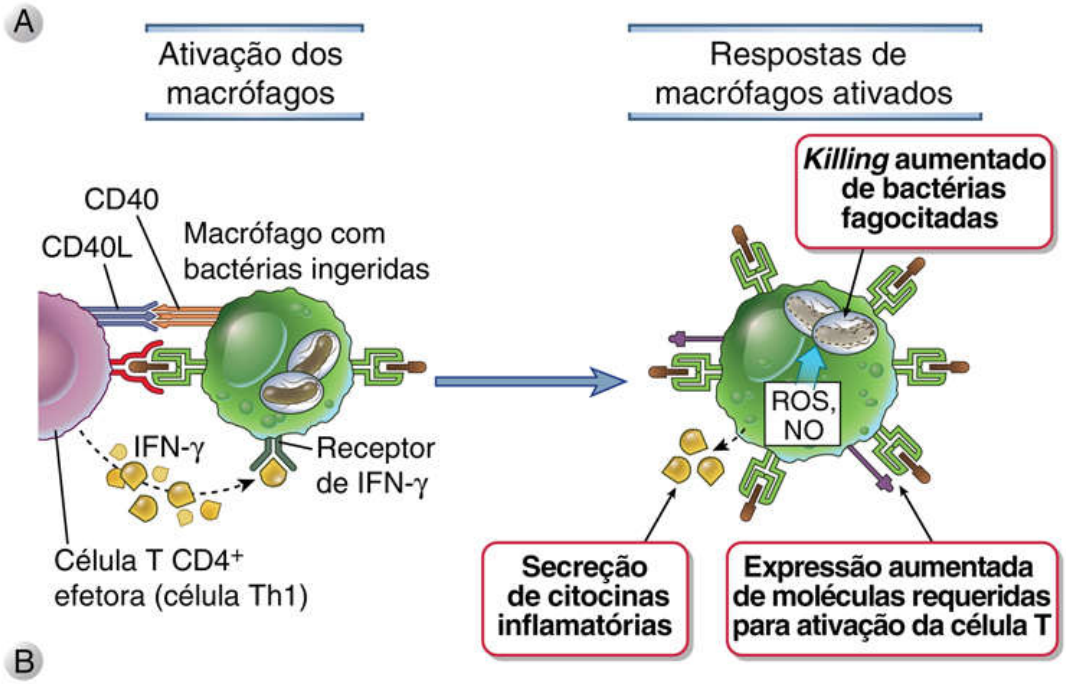
Outras Citocinas Th1

Além do IFN-γ, as células Th1 produzem fator de necrose tumoral (TNF) e várias quimiocinas. Essas moléculas contribuem para o recrutamento dos

leucócitos e intensificação da inflamação. De modo surpreendente, as células Th1 também são fontes importantes de IL-10, cujas funções consistem principalmente em inibir as células dendríticas e macrófagos, suprimindo assim a ativação Th1. Esse é um exemplo de alça de *feedback* negativo nas respostas de células T.

Ativação Clássica do Macrófago Th1-mediada e Killing de Microrganismos Fagocitados

As células Th1 ativam macrófagos por meio de sinais mediados por contatos emitidos pelas interações CD40L-CD40 e pelo IFN-γ (Fig. 10.7). Essa via de ativação do macrófago é chamada clássica, para distingui-la da ativação alternativa Th2-induzida do macrófago, descrita posteriormente. Os macrófagos ativados pela via clássica também são chamados macrófagos M1. Historicamente, o termo "ativação de macrófago" em geral se refere à via clássica. Quando as células Th1 são estimuladas pelo antígeno, as células expressam CD40L em sua superfície e secretam IFN-γ. As ações do IFN-γ sobre os macrófagos, descritas anteriormente, sinergizam com as ações de CD40L e essas duas moléculas, juntas, são um estímulo potente para a ativação do macrófago. Os sinais do CD40 ativam os fatores de transcrição fator nuclear κB (NF-κB, do inglês, *nuclear factor κB*) e proteína de ativação 1 (AP-1, do inglês, *activation protein 1*), enquanto o IFN-γ, como já discutido, ativa o fator de transcrição STAT1. Juntos, os fatores de transcrição estimulam a expressão de várias enzimas nos fagolisossomos dos macrófagos, incluindo a óxido nítrico sintase induzível (iNOS, do inglês, *inducible nitric oxide synthase*), que estimula a produção de óxido nítrico (NO, do inglês, *nitric oxide*); e enzimas lisossômicas. A ativação do macrófago também está associada à montagem da enzima fagócito oxidase na membrana do fagolisossomo, que induz produção de espécies reativas de oxigênio (ROS, do inglês, *reactive oxygen species*) (embora isso seja menos proeminente do que em neutrófilos). O requerimento de interações entre as moléculas de CD40 de superfície nos macrófagos e CD40L nas células T garante que os macrófagos que apresentam antígenos para as células T (i. e., os macrófagos que abrigam microrganismos intracelulares) também são os macrófagos que entrarão em contato com as células T e, portanto, mais eficientemente ativados por essas células.



B

Resposta do macrófago	Papel na imunidade mediada por célula
Produção de óxido nítrico, aumento de enzimas lisossômicos, espécies reativas de oxigênio	*Killing* de microrganismos em fagolisossomos (função efetora de macrófagos)
Secreção de citocinas (TNF, IL-1, IL-12) e quimiocinas	TNF, IL-1, quimiocinas: recrutamento de leucócitos (inflamação) IL-12: diferenciação Th1, produção de IFN-γ
Expressão aumentada de coestimuladores B7, moléculas do MHC	Ativação aumentada de célula T (amplificação da resposta de célula T)

FIGURA 10.7 Ativação do macrófago por célula Th1.
A, Os macrófagos são ativados por interações CD40L-CD40 e pelo IFN-γ expresso pelas células Th1, e realizam várias funções que destroem microrganismos, estimulam inflamação e aumentam a capacidade de apresentação antigênica das células. **B,** São listadas as principais respostas dos macrófagos ativados pela via de ativação clássica e seus papéis na defesa do hospedeiro mediada por célula T. Os macrófagos também são ativados durante as reações imunes inatas e desempenham funções similares (Capítulo 4).

Os macrófagos ativados matam microrganismos fagocitados principalmente por meio das ações do NO, enzimas lisossômicas e ROS. Todos esses agentes microbicidas potentes são produzidos nos lisossomos

de macrófagos e matam os microrganismos depois que os fagossomos se fundem aos lisossomos (Fig. 4.12). Essas substâncias tóxicas também podem ser liberadas nos tecidos adjacentes, onde matam microrganismos extracelulares e podem causar dano aos tecidos normais.

As imunodeficiências herdadas, assim como os camundongos *knockout* para genes, estabeleceram a importância decisiva das interações CD40L-CD40, em adição ao IFN-γ, na imunidade celular contra patógenos intracelulares. Seres humanos com mutações herdadas em CD40L **(síndrome da hiper-IgM ligada ao X)** e camundongos *knockout* para o gene de CD40 ou de CD40L são altamente suscetíveis a infecções por microrganismos, entre os quais o fungo *Pneumocystis jiroveci* (Capítulo 21), as quais requerem ativação de macrófago dependente de célula T para serem erradicadas. Esses pacientes e os camundongos *knockout* também têm defeitos na produção de anticorpo dependente de células T auxiliares, devido ao papel decisivo da interação CD40L-CD40 na ativação da célula B (Capítulo 12).

Há casos raros de pacientes que produzem antoanticorpos contra seu próprio IFN-γ e são suscetíveis a infecções micobacterianas disseminadas.

Macrófagos ativados por células Th1 estão envolvidos em várias outras reações de defesa do hospedeiro (Fig. 10.7). Estimulam inflamação via secreção de citocinas, principalmente TNF, IL-1 e quimiocinas, bem como mediadores lipídicos de vida curta, como as prostaglandinas, leucotrienos e o fator ativador de plaquetas. A ação coletiva desses mediadores inflamatórios derivados do macrófago é recrutar mais leucócitos, o que intensifica a habilidade do hospedeiro de destruir organismos infecciosos. Os macrófagos ativados podem amplificar as respostas imunes celulares se tornando APCs mais eficientes, devido aos níveis aumentados de moléculas envolvidas no processamento antigênico e à aumentada expressão de superfície de moléculas de MHC de classe II e coestimuladores, bem como produzindo citocinas (como a IL-12) que estimulam a diferenciação do linfócito T em células efetoras.

Certo grau de lesão tecidual normalmente pode acompanhar as reações imunes mediadas por células Th1 aos microrganismos, porque os produtos microbicidas liberados pelos macrófagos e neutrófilos ativados são capazes de lesar o tecido normal e não discriminam entre microrganismos e tecido do hospedeiro. Entretanto, essa lesão tecidual geralmente é limitada em extensão e duração, e se resolve com a eliminação da infecção.

A Subpopulação Th2

A subpopulação Th2 é o mediador da defesa fagócito-independente, em que os eosinófilos e mastócitos exercem papéis centrais. Essas reações são importantes para a erradicação das infecções helmínticas e, talvez, também para a eliminação de outros microrganismos nos tecidos de mucosa. Também são centrais ao desenvolvimento de doenças alérgicas (Capítulo 20).

Desenvolvimento de Células Th2

A diferenciação em Th2 ocorre em resposta aos helmintos e alérgenos, e é intensificada pela citocina IL-4 (Fig. 10.8). As citocinas que iniciam o desenvolvimento das células Th2 são incompletamente definidas e podem incluir IL-25, IL-33 e linfopoietina estromal tímica produzida por células epiteliais danificadas e outras células. A IL-4 produzida pelos mastócitos e pelas próprias células Th2 promove mais diferenciação em Th2.

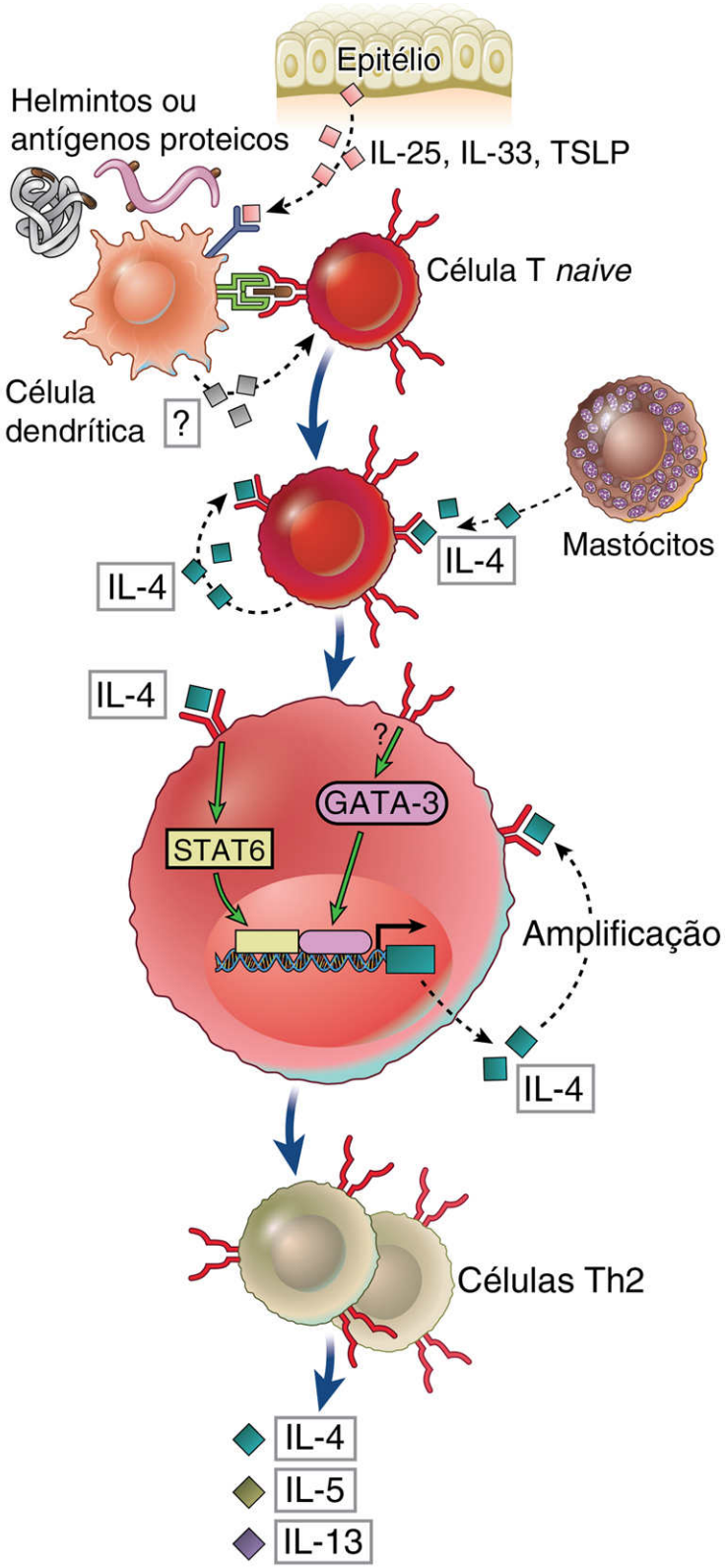


FIGURA 10.8 Desenvolvimento de células Th2.
As células dendríticas podem responder às citocinas produzidas nos epitélios se tornando indutoras de Th2, por mecanismos ainda

pouco definidos. A IL-4 produzida pelas próprias células T ativadas ou por mastócitos e eosinófilos, especialmente em resposta a helmintos, ativa os fatores de transcrição GATA3 e STAT6, que estimulam a diferenciação das células T $CD4^+$ *naive* em células da subpopulação Th2. A IL-4 produzida pelas células Th2 amplifica essa resposta e inibe o desenvolvimento das células Th1 e Th17.

A IL-4 estimula o desenvolvimento de Th2 ativando o fator de transcrição STAT6 que, aliado aos sinais emitidos pelo receptor da célula T (TCR, do inglês,* T cell receptor*), induz expressão de GATA-3 (Fig. 10.8). O GATA-3 é um fator de transcrição que estimula a expressão dos genes das citocinas Th2 — IL-4, IL-5 e IL-13 — os quais estão localizados no mesmo *locus* genético. O GATA-3 atua interagindo diretamente com os promotores desses genes e também levando ao remodelamento da cromatina, que abre o *locus* para acessibilidade a outros fatores de transcrição. Isso é similar ao modo como T-bet influencia a expressão de IFN-γ. GATA-3 atua para comprometer estavelmente as células em diferenciação na direção do fenótipo Th2, intensificando sua própria expressão através de uma alça de *feedback* positiva. Em adição, GATA-3 bloqueia a diferenciação Th1 inibindo a expressão da cadeia de sinalização do receptor de IL-12. Camundongos *knockout* para IL-4, STAT6 ou GATA-3 são deficientes nas respostas Th2.

Funções das Células Th2

As células Th2 estimulam as reações mediadas por IgE, mastócitos e eosinófilos, as quais servem para erradicar as infecções helmínticas e promover o reparo tecidual (Fig. 10.9). Os helmintos são grandes demais para serem fagocitados por neutrófilos e macrófagos, e podem ser mais resistentes às atividades microbicidas desses fagócitos do que a maioria das bactérias e vírus. Portanto, mecanismos especiais se fazem necessários para a defesa contra as infecções helmínticas. As funções das células Th2 são mediadas pela IL-5, que ativa eosinófilos, e pela IL-13, que tem diversas ações. As células Tfh produtoras de IL-4 estimulam a produção de anticorpos IgE que estão envolvidos na maioria das reações de defesa Th2-mediadas. Primeiramente, descreveremos as propriedades dessas citocinas e, em seguida, seus papéis na defesa do hospedeiro.

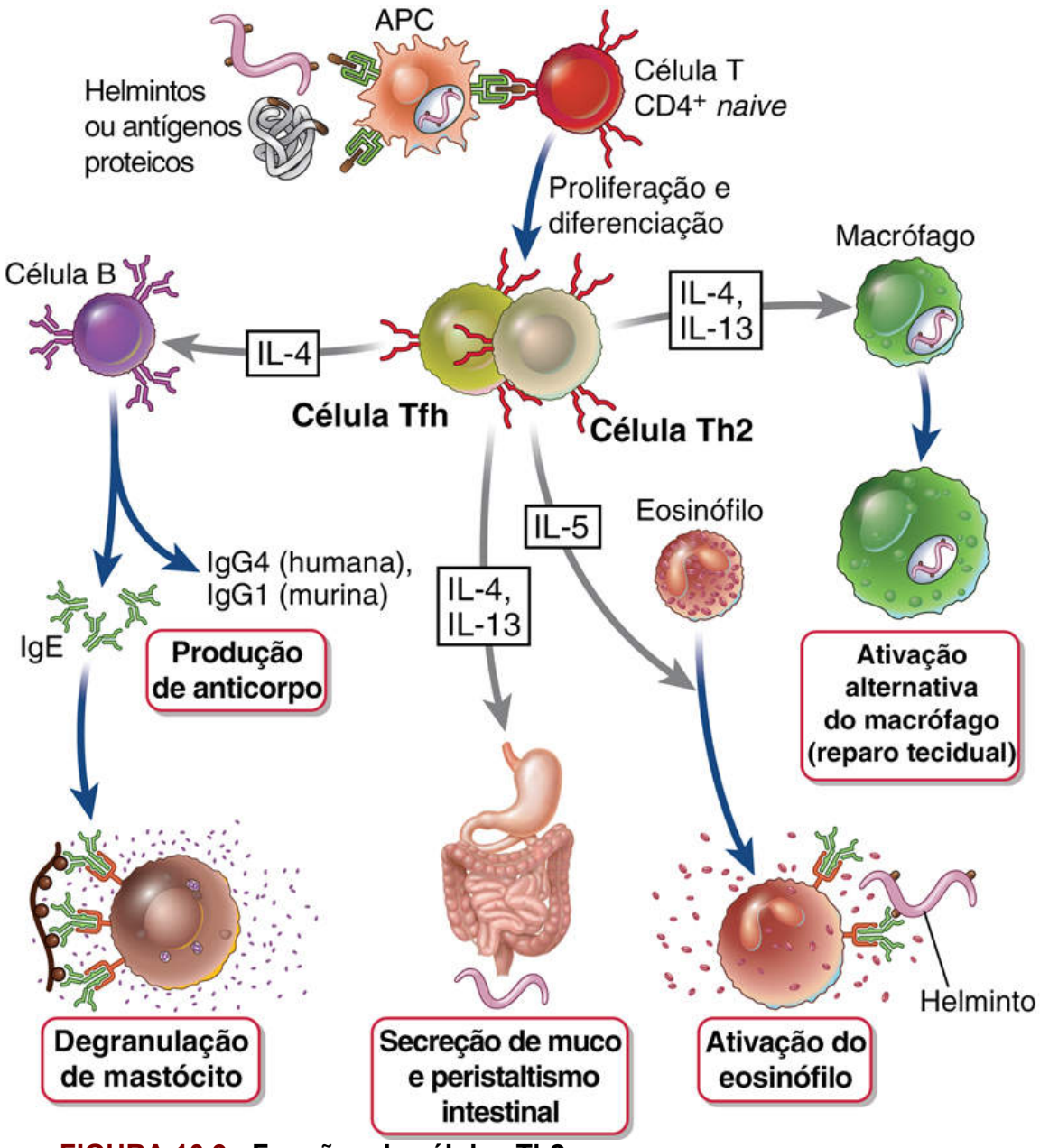


FIGURA 10.9 Funções de células Th2.
As células T CD4$^+$ que se diferenciam em células Th2 secretam IL-4, IL-5 e IL-13. A IL-4 (e a IL-13) atuam nas células B para estimular a produção de anticorpos que se ligam aos mastócitos e eosinófilos, como a IgE. A ajuda para produção de anticorpo pode ser fornecida pelas células Tfh produtoras de citocinas Th2, que residem em órgãos linfoides, e não pelas celulas Th2 clássicas.

Interleucina-4

A IL-4 é a citocina de assinatura da subpopulação Th2, atuando como citocina indutora e efetora dessas células. É membro da família de citocinas 4-α-helicoidais de tipo I. As principais fontes celulares de IL-4 são os linfócitos T $CD4^+$ da subpopulação Th2 e os mastócitos ativados, porém outras células teciduais também produzem essa citocina. O receptor de IL-4 consiste em uma cadeia α ligante de citocina que é membro da família de receptores de citocina do tipo I, associada à cadeia γ_c compartilhada com outros receptores de citocina. Este receptor IL-4R$\alpha\gamma_c$ sinaliza por uma via JAK-STAT envolvendo JAK1, JAK3 e STAT6, e por uma via envolvendo a proteína do substrato de resposta à insulina (IRS; do inglês, *insulin response substrate*) chamada IRS-2. O STAT6 ativado induz transcrição de genes que contribuem para muitas ações dessa citocina. A IL-4 também se liga ao receptor de IL-13 (descrito posteriormente).

A IL-4 exerce ações importantes em vários tipos celulares.

- ***A IL-4 produzida pelas células Tfh estimula a troca de classe da cadeia pesada de Ig da célula B para o isótipo IgE.*** Os mecanismos de troca de classe são descritos no Capítulo 12. Camundongos *knockout* que não expressam IL-4 têm menos de 10% dos niveis normais de IgE. Os anticorpos IgE atuam na defesa mediada por eosinófilos contra infecções por helmintos e a IgE é o principal mediador das reações de hipersensibilidade imediata (alérgica) (Capítulo 20). A IL-4 também intensifica a mudança para IgG4 (em seres humanos, ou para o homólogo murino IgG1) e inibe a mudança para os isótipos IgG2a e IgG2c em camundongos, ambas estimuladas pelo IFN-γ. Essa é uma das várias ações antagonistas recíprocas da IL-4 e do IFN-γ. A IL-13 também pode contribuir para a mudança para o isótipo IgE.
- ***A IL-4 estimula o desenvolvimento de células Th2 efetoras a partir de células T $CD4^+$* naive *e atua como fator de crescimento para células Th2 diferenciadas.*** Esta função da IL-4 foi descrita anteriormente.
- ***A IL-4 atuando com a IL-13 contribui para uma forma alternativa de ativação de macrófagos que difere da resposta do macrófago ao IFN-γ.*** IL-4 e IL-13 suprimem a ativação clássica do macrófago mediada por IFN-γ, inibindo assim a defesa contra os microrganismos intracelulares que são destruídos por fagocitose.
- ***A IL-4 (e a IL-13) estimulam o peristaltismo no trato gastrintestinal, sendo que a IL-13 aumenta a secreção de muco pelas células epiteliais do intestino e das vias aéreas.*** Ambas as

ações contribuem para a eliminação de microrganismos nas superfícies epiteliais.

- ***IL-4 e IL-13 estimulam o recrutamento de leucócitos,*** notavelmente de eosinófilos, por meio da promoção da expressão de moléculas de adesão ao endotélio e pela secreção de quimiocinas que se ligam a receptores de quimiocina expressos nos eosinófilos.

Interleucina-13

A IL-13 é estrutural e funcionalmente similar à IL-4, e exerce papel essencial na defesa contra helmintos (Capítulo 16) e em doenças alérgicas (Capítulo 20). A IL-13 é membro de uma família de citocinas 4-α-helicoidais de tipo I. A IL-13 é produzida principalmente pela subpopulação Th2, contudo as células linfoides inatas e outros leucócitos também podem produzi-la. O receptor funcional de IL-13 é um heterodímero das cadeias IL-4Rα e IL-13Rα1. Esse complexo pode se ligar tanto à IL-4 como à IL-13, com alta afinidade, e também sinaliza pela via JAK1, JAK3 e STAT6. O receptor é expresso em uma ampla variedade de células, incluindo as células B, fagócitos mononucleares, células dendríticas, eosinófilos, basófilos, fibroblastos, células endoteliais e células epiteliais brônquicas. As células T não expressam o receptor de IL-13.

A IL-13 atua junto com a IL-4 na defesa contra os helmintos e na inflamação alérgica. Algumas ações da IL-13 se sobrepõem as da IL-4, enquanto outras são distintas. Como já mencionado, IL-13 e IL-4 são capazes de ativar as células B para a mudança de isótipo para IgE e alguns isótipos de IgG, bem como de recrutar leucócitos, sendo que ambas estão envolvidas na ativação alternativa do macrófago. A IL-13 estimula a produção de muco pelas células epiteliais das vias aéreas, um componente importante das reações alérgicas, entre as quais a asma. Diferentemente da IL-4, a IL-13 não está envolvida na diferenciação de Th2.

Interleucina-5

A IL-5 é uma ativador de eosinófilos e atua como principal ligação entre a ativação da célula T e a inflamação eosinofílica. É um homodímero de um polipeptídeo contendo um domínio 4-α-helicoidal e é membro de uma família de citocinas do tipo I. É produzida principalmente por células Th2 e células linfoides inatas. O receptor da IL-5 é um heterodímero composto por uma única cadeia α e uma cadeia β comum (β_c), que também faz parte dos receptores de IL-3 e de GM-CSF (Fig. 7.23). A principal via de sinalização induzida pela IL-5 envolve JAK2 e STAT3.

As principais ações da IL-5 são ativar eosinófilos maduros e estimular o crescimento e diferenciação de eosinófilos. Os eosinófilos ativados são capazes de matar helmintos. Os eosinófilos expressam receptores Fc específicos para IgE e alguns anticorpos IgG, sendo assim capazes de se ligar a microrganismos, como os helmintos, que estejam recobertos por esses anticorpos.

Papéis das Células Th2 na Defesa do Hospedeiro

As células Th2 atuam na defesa contra infecções helmínticas e outras infecções, por vários mecanismos (Fig. 10.9).

- ***Reações mediadas por IgE e por eosinófilos.*** A IL-4 (e a IL-13) secretada pelas células Tfh nos órgãos linfoides e talvez pelas células Th2 nos tecidos periféricos, estimula a produção de anticorpos IgE helminto-específicos que se ligam a antígenos presentes em helmintos e promovem a fixação dos eosinófilos, através de suas regiões Fc. A IL-5 ativa os eosinófilos e estes liberam os conteúdos de seus grânulos, incluindo a proteína básica principal e a proteína catiônica principal, que são capazes de destruir até o resistente tegumento dos helmintos (Capítulo 16). A IgE também recobre os mastócitos e induz sua desgranulação mediante o encontro com o antígeno. Essa reação é importante nas doenças alérgicas (Capítulo 20).
- ***Defesa do hospedeiro nas barreiras de mucosas.*** As citocinas produzidas pelas células Th2 estão envolvidas no bloqueio da entrada e promoção da expulsão de microrganismos dos órgãos de mucosa, por meio do aumento da produção de muco e do peristaltismo intestinal. Assim, as células Th2 exercem papel importante na defesa do hospedeiro junto às barreiras de contato com o meio externo, às vezes denominada imunidade de barreira.
- ***Ativação alternativa do macrófago e reparo tecidual.*** A IL-4 e a IL-13 ativam os macrófagos a expressarem enzimas promotoras de síntese de colágeno e fibrose. A resposta do macrófago às citocinas Th2 é chamada **ativação alternativa do macrófago** (Fig. 10.10) para distingui-la da ativação induzida pelo IFN-γ, que foi caracterizada primeiro (daí a designação *clássica*) e que resulta em potentes funções microbicidas e em inflamação (Fig. 10.7). Os macrófagos ativados pela via alternativa (também chamada M2) produzem citocinas que terminam a inflamação e iniciam o reparo após

diversos tipos de lesão tecidual. Esses macrófagos, bem como as próprias células Th2, induzem cicatrização e fibrose por meio da secreção de fatores de crescimento que estimulam a proliferação do fibroblasto (fator de crescimento derivado de plaquetas), síntese de colágeno (IL-13, fator de transformação do crescimento-β [TGF-β, do inglês, *transforming growth factor-β*]) e formação de novos vasos sanguíneos ou angiogênese (fator de crescimento do fibroblasto). As citocinas Th2 também suprimem a ativação clássica dos macrófagos e interferem nas respostas imunes protetoras mediadas por Th1 a infecções intracelulares (Capítulo 16). Embora a separação das formas de ativação clássica e alternativa do macrófago propicie um contexto útil para a compreensão da heterogeneidade do macrófago, numerosas outras subpopulações foram descritas e os macrófagos M1 e M2 provavelmente não são subpopulações fixas.

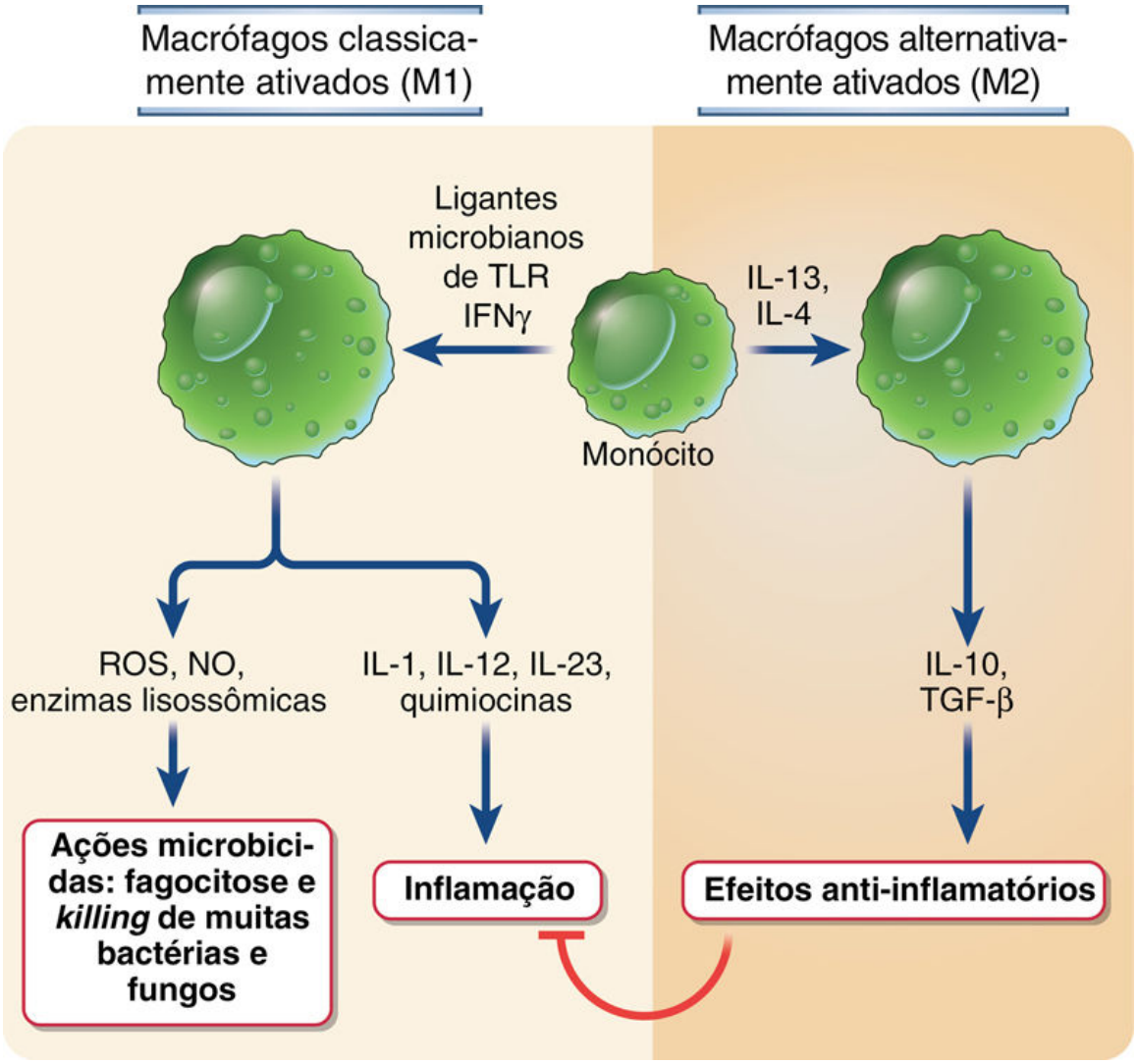


FIGURA 10.10 Ativação clássica e alternativa de macrófagos. Diferentes estímulos ativam macrófagos teciduais a se desenvolverem em populações funcionalmente distintas. Os macrófagos classicamente ativados induzidos por produtos microbianos e citocinas, em particular o IFN-γ, são microbicidas e estão envolvidos em uma inflamação potencialmente danosa. Os macrófagos alternativamente ativados são induzidos pela IL-4 e IL-13 produzida pelas células Th2 e outros leucócitos, e atuam controlando a inflamação e promovendo reparo tecidual e fibrose. Alguns pesquisadores dividem a população de macrófagos M2 em subpopulações, algumas das quais são principalmente anti-inflamatórias e outras são responsáveis pelo reparo tecidual.

A Subpopulação Th17

A subpopulação Th17 está primariamente envolvida no recrutamento de neutrófilos e, em menor extensão, de monócitos para os sítios de infecção e inflamação. Essas reações são essenciais para a destruição de bactérias e fungos, microrganismos que são mortos pelos fagócitos, e também contribuem de forma significativa para as doenças inflamatórias.

Desenvolvimento de Células Th17

O desenvolvimento de células Th17 é estimulado por citocinas pró-inflamatórias produzidas em resposta a bactérias e fungos (Fig. 10.11). Várias bactérias e fungos atuam sobre as células dendríticas e estimulam a produção de citocinas, incluindo IL-6, IL-1 e IL-23, todas promotoras de diferenciação das células T $CD4^+$ na subpopulação Th17. O engajamento do receptor de lectina Dectina-1 nas células dendríticas pelas glucanas fúngicas é um sinal para a produção dessas citocinas. A combinação de citocinas que dirige o desenvolvimento da célula Th17 pode ser produzida não só em resposta a microrganismos particulares, como os fungos, mas também quando células infectadas por várias bactérias e fungos entram em apoptose e são ingeridas por células dendríticas. Embora a IL-6 e a IL-1 estimulem as primeiras etapas na diferenciação em Th17, a IL-23 pode ser mais importante para a proliferação e manutenção das células Th17 diferenciadas. Um aspecto surpreendente da diferenciação em Th17 é que o TGF-β, produzido por muitos tipos celulares e sendo uma citocina anti-inflamatória (Capítulo 15), promove o desenvolvimento de células Th17 pró-inflamatórias quando outros mediadores de inflamação, tais como IL-6 ou IL-1, estão presentes. A diferenciação em Th17 é inibida pelo IFN-γ e pela IL-4; deste modo, as respostas Th1 e Th2 fortes tendem suprimir o desenvolvimento Th17.

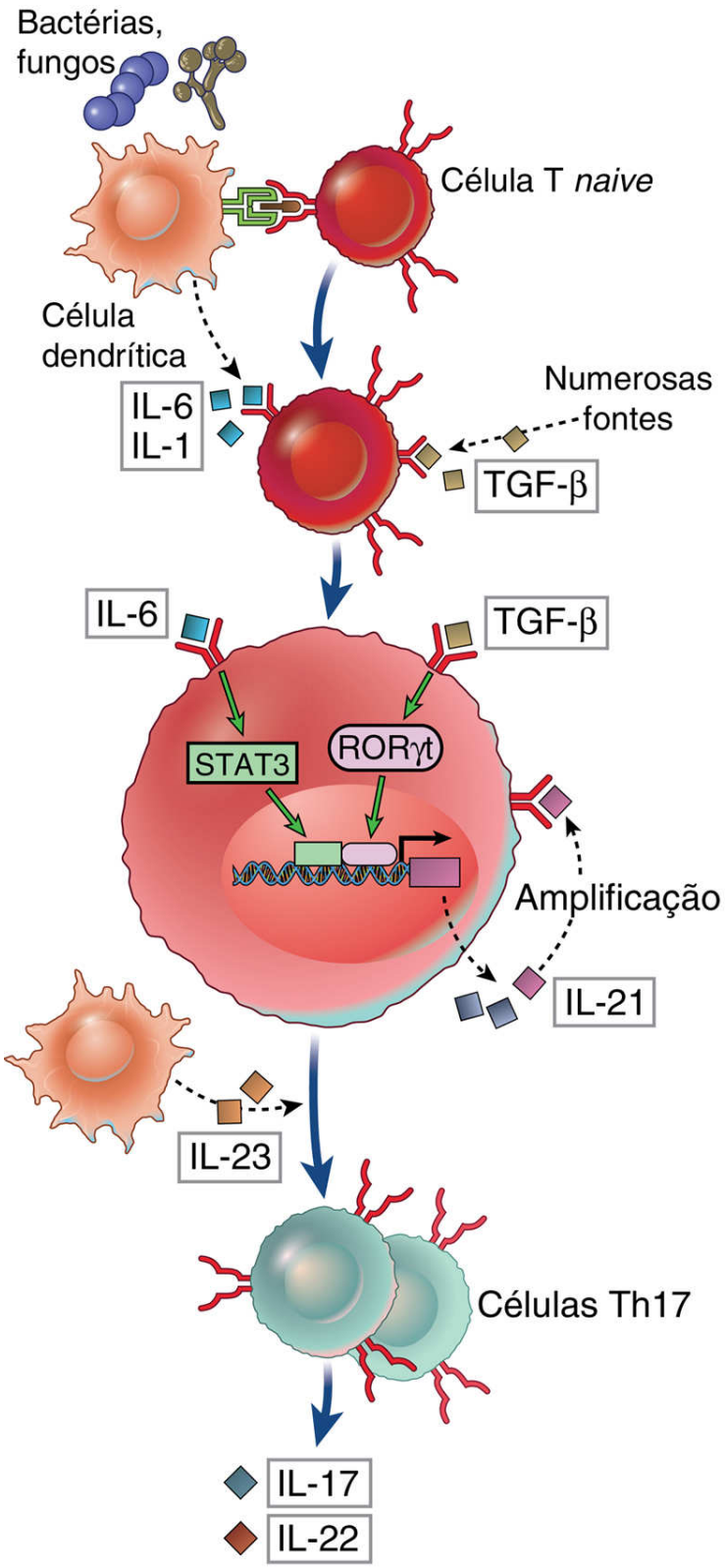


FIGURA 10.11 Desenvolvimento de células Th17.
A IL-1 e IL-6, produzidas pelas APCs, e o fator transformador do crescimento-β (TGF-β), produzido por várias células, ativam fatores

de transcrição RORγt e STAT3 que estimulam a diferenciação de células T $CD4^+$ *naive* em células da subpopulação Th17. A IL-23, que também é produzida pelas APCs, especialmente em resposta a fungos, estabiliza as células Th17. O TGF-β pode promover respostas Th17 indiretamente, via supressão das células Th1 e Th2, ambas inibidoras da diferenciação Th17 *(não mostrado)*. A IL-21 produzida pelas células Th17 amplifica essa resposta.

O desenvolvimento das células Th17 depende dos fatores de transcrição RORγt e STAT3 (Fig. 10.11). O TGF-β e as principais citocinas inflamatórias, principalmente a IL-6 e a IL-1, atuam em cooperação para induzir a produção de RORγt, um fator de transcrição que é membro da família do receptor do ácido retinoico. RORγt é uma proteína restrita à célula T e codificada pelo gene *RORC*, sendo por isso às vezes chamada RORc. As citocinas inflamatórias, notavelmente a IL-6, ativam o fator de transcrição STAT3 que, por sua vez, atua com RORγt dirigindo a resposta Th17.

As células Th17 parecem ser abundantes nos tecidos de mucosa, particularmente do trato gastrintestinal, sugerindo que o ambiente tecidual influencia a geração desta subpopulação, talvez por meio do fornecimento de altas concentrações locais de TGF-β e citocinas inflamatórias. Essa observação também sugere que as células Th17 podem ser especialmente importantes no combate a infecções intestinais e no desenvolvimento de inflamação intestinal patológica. O desenvolvimento das células Th17 no trato gastrintestinal depende da população microbiana local; em camundongos, algumas bactérias comensais relacionadas à espécie *Clostridium* são particularmente indutores potentes de células Th17.

Funções das Células Th17

As células Th17 combatem microrganismos recrutando leucócitos, principalmente neutrófilos, para os sítios de infecção (Fig. 10.12). Como os neutrófilos constituem um dos principais mecanismos de defesa contra muitas bactérias e fungos comuns, as células Th17 exercem papel importante na defesa contra essas infecções. A maioria das ações inflamatórias dessas células é mediada pela IL-17, mas outras citocinas produzidas por essa subpopulação também podem contribuir.

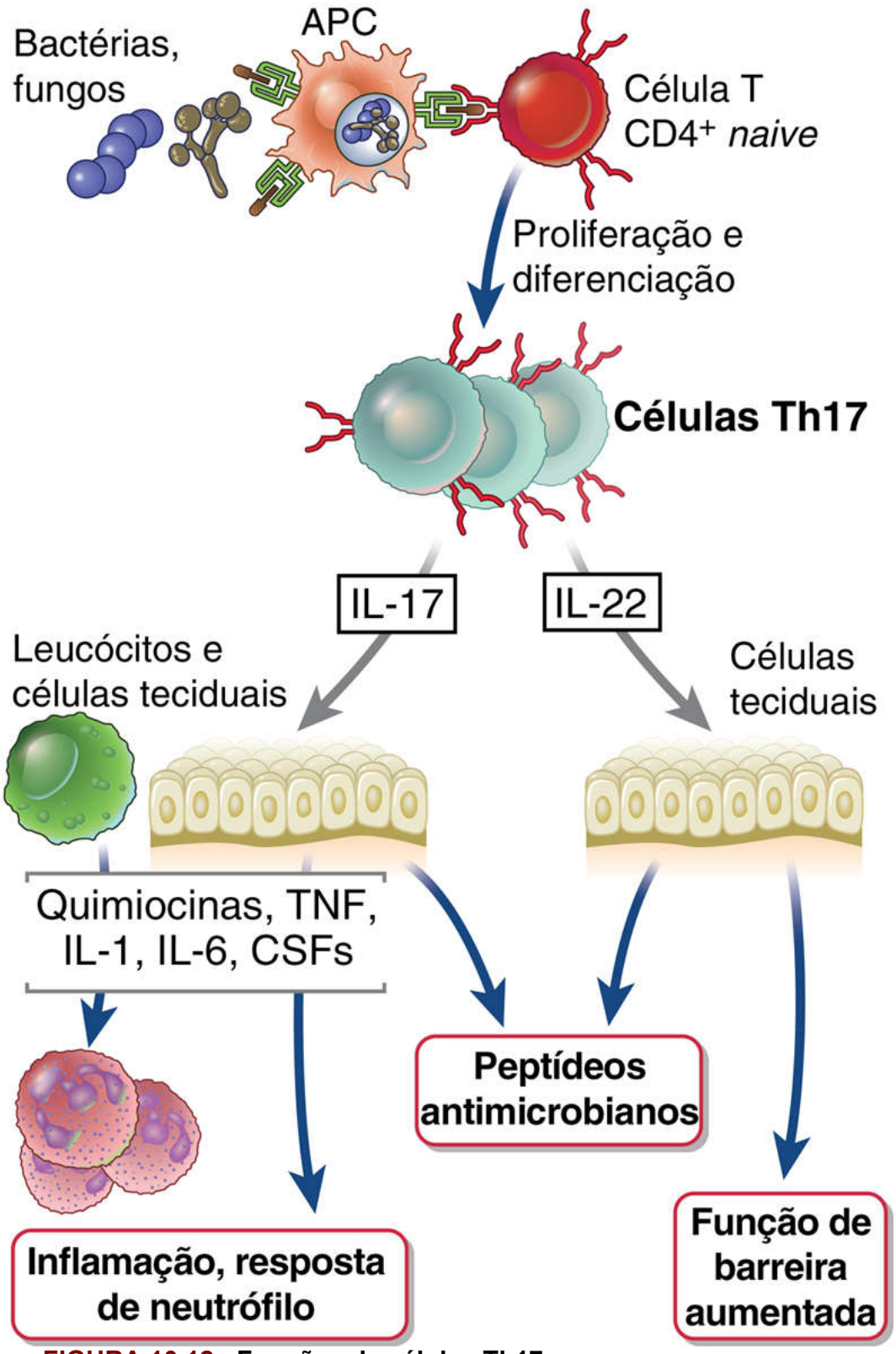


FIGURA 10.12 **Funções de células Th17.**
As citocinas produzidas pelas células Th17 estimulam a produção local de quimiocinas que recrutam neutrófilos e outros leucócitos,

aumentam a produção de peptídeos antimicrobianos (defensina) e promovem as funções da barreira epitelial.

Interleucina-17

A IL-17 é uma citocina incomum, porque nem ela nem seu receptor são homólogos a nenhum outro par citocina-receptor conhecido. A família da IL-17 inclui seis proteínas estruturalmente relacionadas, dentre as quais a IL-17A e a IL-17F são as mais similares, e as funções imunológicas desta família de citocina são mediadas primariamente pela IL-17A. A IL-17A é produzida por células Th17, bem como por células linfoides inatas e algumas células T $\gamma\delta$ e $CD8^+$. Os receptores de IL-17 são multiméricos e expressos em uma ampla gama de células (Capítulo 7).

A IL-17 representa uma ligação importante entre a imunidade adaptativa mediada pela célula T e a resposta inflamatória aguda, que discutimos no Capítulo 4 como sendo uma das principais reações de imunidade inata. O termo *inflamação imune* às vezes é usado para indicar a forte reação inflamatória que pode acompanhar as respostas de célula T; em muitos casos, essas reações são mais intensas e prolongadas do que aquelas que se observam na imunidade inata, quando as células T não estão envolvidas.

A IL-17 tem várias funções importante na defesa do hospedeiro.

- ***A IL-17 induz inflamação rica em neutrófilos.*** A IL-17 estimula a produção de quimiocinas e outras citocinas que recrutam neutrófilos e, em menor extensão, monócitos para o sítio de ativação de célula T. Também intensifica a geração de neutrófilos, aumentando a produção de fator estimulador de colônia de granulócitos (G-CSF, do inglês, *granulocyte colony-stimulating factor*) e a expressão de seus receptores. Os neutrófilos recrutados ingerem e destroem bactérias e fungos.
- ***A IL-17 estimula a produção de substâncias antimicrobianas,*** incluindo defensinas, por numerosos tipos celulares (Capítulo 4).

Outras Citocinas Th17

A ***IL-22*** é um membro da família de citocinas de tipo II. É produzida por células T ativadas, particularmente as células Th17, e por algumas células NK e células linfoides inatas. A IL-22 é produzida em tecidos epiteliais, especialmente da pele e do trato gastrintestinal, e serve para manter a

integridade epitelial, sobretudo por meio da promoção da função de barreira dos epitélios, estimulando as reações de reparo e induzindo a produção de peptídeos antimicrobianos. A IL-22 também contribui para a inflamação, em parte estimulando a produção epitelial de quimiocinas, e pode, portanto, estar envolvida na lesão tecidual em doenças inflamatórias.

A ***IL-21*** é produzida por células T $CD4^+$ ativadas, incluindo as células Th17 e as células Tfh. Produz uma ampla variedade de efeitos sobre as células B e T, bem como nas células NK. O receptor da IL-21 pertence à família do receptor de citocinas de tipo I, consistindo em uma cadeia de ligação ao ligante e uma subunidade γ_c. Esse receptor ativa uma via de sinalização JAK-STAT em que STAT3 é especialmente proeminente. Uma importante função da IL-21 são as respostas de anticorpo, especialmente as reações que ocorrem nos centros germinativos (Capítulo 12). A IL-21 é requerida para a geração de células Tfh e ativa células B nos centros germinativos. Também foi demonstrado que a IL-21 promove a diferenciação das células Th17, especialmente em seres humanos, propiciando uma via autócrina de amplificação das respostas Th17. Algumas das outras ações relatadas da IL-21 incluem o aumento da proliferação, diferenciação e função efetora das células T $CD8^+$ e células NK.

Papéis das Células Th17 na Defesa do Hospedeiro

A principal função das células Th17 é destruir bactérias e fungos extracelulares, principalmente por meio da indução de inflamação neutrofílica (Fig. 10.12). Os neutrófilos recrutados ingerem e destroem microrganismos extracelulares. A importância deste papel das células Th17 é ilustrada por uma doença hereditária chamada **síndrome de Jó** (ou síndrome de hiper-IgE). Essa condição é causada por mutações em STAT3 que resultam no desenvolvimento defeituoso da Th17, e se caracteriza pela suscetibilidade aumentada a infecções bacterianas e fúngicas na pele. Os pacientes apresentam múltiplos abscessos bacterianos e fúngicos cutâneos, lembrando os relatos bíblicos das punições experimentadas por Jó. A função Th17 defeituosa também está associada à candidíase mucocutânea crônica. De modo surpreendente, pacientes com mutações no gene *RORC*, que codifica RORγt, o fator de transcrição canônico para células Th17, apresentam defeitos não só na produção de IL-17 como também na produção de IFN-γ, a citocina Th1 clássica.

As células Th17 contribuem para a patogênese de muitas doenças inflamatórias. As respostas Th17 têm sido associadas à psoríase, enteropatia inflamatória, artrite reumatoide e esclerose múltipla. Agentes que bloqueiam o desenvolvimento ou as funções das células Th17 estão passando por estudos clínicos para várias destas doenças e são aprovados para uso no tratamento da psoríase. Esses antagonistas não são efetivos na enteropatia inflamatória e talvez também na artrite reumatoide, de modo que o papel das células Th17 nessas doenças é incerto. Células Th1 e Th17 podem estar presentes nas lesões encontradas em várias doenças inflamatórias, e ambas podem contribuir para o desenvolvimento e propagação desses distúrbios.

As células Th17 ajudam a manter a integridade das barreiras epiteliais, como no trato intestinal. Essa função se deve, em parte, ao fato de as células T limitarem a entrada de microrganismos infecciosos através das barreiras, estimulando a produção local de peptídeos antimicrobianos; e também é devida, em parte, à promoção de regeneração dos epitélios pela IL-22. É possível que diferentes subpopulações de células Th17 estejam envolvidas nessa função protetora, bem como nos papéis patogênicos dessa subpopulação. Tentar distinguir as subpopulações úteis e prejudiciais de subpopulações de células T auxiliares é, por motivos óbvios, alvo de interesse considerável.

Funções de Outras Subpopulações de Células T

Além das células T $CD4^+$ e $CD8^+$, existem populações menores de células T que têm características distintas e provavelmente exercem funções especializadas na defesa do hospedeiro. Dentre estas, as subpopulações mais bem definidas são as das células T γδ, células T *natural killer* (NKT) e células T invariantes associadas à mucosa (MAIT, do inglês, *mucosa-associated invariant T*). Esses três tipos celulares têm características em comum que os distinguem das células T $CD4^+$ e $CD8^+$. Reconhecem um número limitado, todavia amplamente variado, de tipos de antígenos, muitos dos quais não peptídicos, e que não são exibidos por moléculas do MHC de classes I e II nas APCs. Os receptores antigênicos das células T γδ, células NKT e células MAIT exibem diversidade limitada, sugerindo que todos os três tipos celulares podem ter evoluído para reconhecer um pequeno grupo de antígenos microbianos. Outra possibilidade é que essas células respondam principalmente não a um antígeno em particular, e sim a citocinas produzidas nos sítios de infecção e dano tecidual. Devido a essas características, costuma-se dizer que essas populações de células T "estão na encruzilhada" entre a imunidade inata e a imunidade adaptativa. Todos os três tipos celulares são abundantes nos tecidos epiteliais, como o trato gastrintestinal. Suas funções podem incluir as seguintes:

- Defesa inicial contra microrganismos encontrados nos epitélios, antes do desenvolvimento das respostas imunes adaptativas.
- Vigilância contra células estressadas, como células que sofreram dano no DNA ou estão infectadas, bem como a eliminação destas células.
- Produção de citocinas que influenciam as respostas imunes adaptativas tardias.

Células T γδ

O receptor antigênico dos linfócitos T $CD4^+$ e $CD8^+$ MHC-restritos é um heterodímero composto por cadeias α e β (Capítulo 7). Existe um segundo tipo de receptor clonalmente distribuído constituído por heterodímeros de cadeias γ e δ que são homólogos às cadeias α e β dos TCRs encontrados

nos linfócitos T $CD4^+$ e $CD8^+$. As células T expressando o TCR γδ representam uma linhagem distinta da linhagem de células T expressando αβ, mais numerosas. Os percentuais de células T γδ variam amplamente em diferentes tecidos e espécies, mas, de modo geral, menos de 5% de todas as células T expressam essa forma de TCR. O heterodímero γδ se associa às proteínas CD3 e ζ do mesmo modo como fazem os heterodímeros αβ do TCR, e os eventos sinalizadores TCR-induzidos típicos das células que expressam αβ também são observados nas células T γδ. Embora a diversidade teórica potencial do TCR γδ seja ainda maior do que a diversidade do TCR αβ, na realidade, apenas um número limitado de regiões V γ e δ são expressas, e há pouca ou nenhuma diversidade juncional.

Diferentes populações de células Tγδ podem se desenvolver em diferentes momentos no decorrer da ontogenia, contêm regiões V distintas em seus receptores antigênicos, residem em tecidos diferentes e têm capacidade limitada de recircular entre estes tecidos. Em camundongos, muitas células T γδ da pele se desenvolvem durante a vida neonatal e expressam um TCR particular cuja região V essencialmente não apresenta variabilidade, enquanto muitas células Tγδ presentes na vagina, no útero e na língua surgem posteriormente e expressam outro TCR com uma região V diferente. A limitada diversidade dos TCRs γδ em muitos tecidos sugere que os antígenos reconhecidos por esses receptores podem ser conservados entre os tipos celulares ou microrganismos comumente encontrados nesses tecidos. Uma característica intrigante das células Tγδ é sua abundância nos tecidos epiteliais de certas espécies. Por exemplo, mais de 50% dos linfócitos presentes na mucosa do intestino delgado de camundongos e frangos, chamados linfócitos intraepiteliais, são células Tγδ. Na pele do comundongo, muitas células T intraepidérmicas expressam o receptor γδ. Populações celulares equivalentes não são tão abundantes nos seres humanos; apenas cerca de 10% das células T intraepiteliais intestinais humanas expressam TCR γδ. As células T γδ presentes nos órgãos linfoides expressam TCRs mais diversificados do que os das células γδ epiteliais.

As células Tγδ não reconhecem antígenos peptídicos associados ao MHC e não são restritas ao MHC. Alguns clones de células Tγδ reconhecem pequenas moléculas fosforiladas, alquilaminas ou lipídeos comumente encontrados em micobactérias e outros microrganismos, e que podem ser apresentadas por moléculas semelhantes ao MHC de classe I. Outras células Tγδ econhecem antígenos proteicos ou não proteicos que dispensam processamento ou qualquer tipo particular de APCs para

serem apresentados. Muitas células Tγδ são desencadeadas por proteínas do choque térmico microbianas. Uma hipótese de trabalho para a especificidade das células Tγδ é que essas células são capazes de reconhecer antígenos encontrados com frequência nas fronteiras epiteliais entre o hospedeiro e o meio externo.

Algumas atividades biológicas foram atribuídas às células Tγδ, incluindo a secreção de citocinas e o* killing *de células infectadas, contudo a função dessas células e sua contribuição para as respostas imunes normais continuam sendo pouco conhecidas. Foi postulado que essa subpopulação de células T pode iniciar respostas imunes a microrganismos presentes nos epitélios, antes do recrutamento e ativação das células Tαβ antígeno-específicas. Entretanto, camundongos sem células Tγδ, criados por ruptura dirigida do gene do TCR γ ou δ, apresentam pouca ou nenhuma imunodeficiência e apenas um aumento modesto na suscetibilidade a infecções por algumas bactérias intracelulares. De modo intrigante, na doença inflamatória cutânea conhecida como psoríase, a IL-17 exerce importante papel patogênico e, em um modelo murino, as primeiras células a produzirem IL-17 nas lesões parecem ser as células Tγδ. Não sabemos se é isso que acontece em outros distúrbios inflamatórios ou o que as células γδ reconhecem nem como contribuem para o desenvolvimento desta doença.

Células T *Natural Killer*

Uma pequena população de células T também expressa marcadores encontrados em células NK, como o CD56 — sendo chamadas células NKT. As cadeias α do TCR expressas por uma subpopulação de células NKT têm diversidade limitada e, em seres humanos, essas células são caracterizadas por uma cadeia α do TCR contendo uma região V codificada por um segmento gênico Vα24-Jα18 rearranjado, com pouca ou nenhuma diversidade juncional, associada a uma cadeia de TCR β que usa um dentre três segmentos gênicos Vβ. Essa diversidade limitada faz com que essas células também sejam chamadas células NKT invariantes (iNKT). Existem ainda outras células NKT que exibem receptor antigênicos bastante diversificados. Todos os TCRs da célula NKT reconhecem lipídeos ligados a moléculas semelhantes ao MHC de classe I, chamadas moléculas CD1. As células NKT e outras células T específicas para antígenos lipídicos são capazes de rapidamente produzir citocinas, como a IL-4 e o IFN-γ, após a ativação, além de também poderem ajudar as células B da zona marginal a produzirem anticorpos contra antígenos

lipídicos. As células NKT podem mediar as respostas imunes inatas contra alguns patógenos, como as micobactérias (que têm paredes celulares ricas em lipídeos), enquanto as células iNKT podem até mesmo regular as respostas imunes adaptativas primariamente via secreção de citocinas. No entanto, os papéis dessas células na imunidade protetora ou na doença em seres humanos são desconhecidos.

Células T Invariantes Associadas à Mucosa (MAIT)

As células MAIT constituem outra subpopulação de células T que expressam TCR $\alpha\beta$ invariante usando um segmento gênico Vα7.2-Jα33 rearranjado. As células MAIT reconhecem metabólitos fúngicos e bacterianos da via da síntese de riboflavina, apresentados por uma molécula do tipo MHC de classe I não polimórfica chamada proteína 1 relacionada ao MHC de classe I (MR1; do inglês, *MHC class I-related protein 1*). A maioria das células MAIT são $CD8^+$ e podem ser ativadas pela apresentação MR1-restrita de derivados da riboflavina microbiana ou diretamente por citocinas, incluindo IL-12 e IL-18. As funções efetoras das células MAIT incluem a secreção de citocinas inflamatórias, como IFN-γ e TNF, e citotoxicidade contra células infectadas. As células MAIT representam cerca de 50% de todas as células T presentes no fígado humano, enquanto as células iNKT e as células T$\gamma\delta$ são relativamente raras. Dada a sua abundância no fígado, é possível que representem uma segunda barreira importante à flora intestinal que tenha rompido a barreira epitelial intestinal e entrado no sangue, uma vez que o sangue que drena do intestino entra primeiro no fígado através da circulação porta.

Tendo concluído nossa discussão sobre as funções das células T $CD4^+$ efetoras e algumas populações de célula T menos comuns, consideraremos no Capítulo 11 as células efetoras da linhagem $CD8^+$, cujos principais papéis consistem na defesa contra infecções virais.

Resumo

- A imunidade mediada por células é a resposta imune adaptativa estimulada por microrganismos que entram nas células do hospedeiro. É mediada por linfócitos T e pode ser transferida de indivíduos imunizados a indivíduos *naive* pelas células T, e não por anticorpos.
- Os linfócitos T auxiliares $CD4^+$ podem se diferenciar em células Th1 efetoras especializadas que secretam IFN-γ, mediador da defesa contra microrganismos intracelulares; ou em células Th2 secretoras de IL-4 e IL-5, que favorecem as reações imunes mediadas por IgE e por eosinófilos/mastócitos contra helmintos; ou ainda em células Th17, promotoras de inflamação e mediadoras da defesa contra fungos e bactérias extracelulares.
- A diferenciação das células T $CD4^+$ *naive* em subpopulações de células efetoras é induzida por citocinas produzidas pelas APCs, pelas próprias células T e por outras células. O programa de diferenciação é regido por fatores de transcrição que promovem expressão de genes de citocina nas células T e alterações epigenéticas em *loci* gênicos de citocina, o que pode estar associado ao comprometimento estável com uma subpopulação particular. Cada subpopulação produz citocinas que aumentam seu próprio desenvolvimento e inibem o desenvolvimento de outras subpopulações, levando assim à polarização aumentada da resposta.
- As células Th1 $CD4^+$ reconhecem antígenos de microrganismos que foram ingeridos por fagócitos e ativam esses fagócitos para destruírem os microrganismos. A ativação dos macrófagos pelas células Th1 é mediada pelo IFN-γ e por interações CD40L-CD40. Macrófagos ativados destroem microrganismos fagocitados digeridos nos fagolisossomos pela ação de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio, bem como de enzimas (chamada ativação clássica do macrófago). Os macrófagos ativados também estimulam inflamação e podem danificar tecidos.
- As células Th2 $CD4^+$ reconhecem antígenos produzidos por helmintos e outros microrganismos, bem como antígenos ambientais associados a alergias. A IL-4, secretada por células Tfh ou células Th2 ativadas, promove troca de isótipo de célula B e

produção de IgE que, por sua vez, pode cobrir helmintos e mediar a desgranulação de mastócitos e inflamação. A IL-5 secretada por células Th2 ativadas ativa eosinófilos a liberarem os conteúdos de seus grânulos que destroem os helmintos e que também podem causar danos aos tecidos do hospedeiro. As IL-4 e a IL-13, juntas, conferem proteção nas barreiras epiteliais e induzem uma forma alternativa de ativação do macrófago em que são gerados macrófagos capazes de controlar a inflamação e mediar o reparo tecidual e a fibrose.

- As células Th17 $CD4^+$ estimulam respostas inflamatórias ricas em neutrófilos que erradicam bactérias e fungos extracelulares. As células Th17 também podem ser importantes na mediação do dano tecidual em doenças autoimunes.
- As células $T\gamma\delta$ e as células NKT são células T que expressam receptores de diversidade limitada e reconhecem vários antígenos sem requerimento de apresentação associada ao MHC. Essas células produzem citocinas e podem contribuir para a defesa do hospedeiro e o desenvolvimento de doenças inflamatórias.

Referências Sugeridas

Diferenciação de Células T CD4$^+$ em Subpopulações de Células Efetoras: Th1, Th2 e Th17

Baumjohann D, Ansel KM. MicroRNA-mediated regulation of T helper cell differentiation and plasticity. *Nat Rev Immunol*. 2013;13:666–678.

De Obaldia ME, Bhandoola A. Transcriptional regulation of innate and adaptive lymphocyte lineages. *Annu Rev Immunol*. 2015;33:607–642.

Fan X, Rudensky AY. Hallmarks of tissue-resident lymphocytes. *Cell*. 2016;164:1198–1211.

Hirahara K, Poholek A, Vahedi G, et al. Mechanisms underlying helper T-cell plasticity: implications for immune-mediated disease. *J Allergy Clin Immunol*. 2013;131:1276–1287.

Kanno Y, Vahedi G, Hirahara K, et al. Transcriptional and epigenetic control of T helper cell specification: molecular mechanisms underlying commitment and plasticity. *Annu Rev Immunol*. 2012;30:707–731.

Murphy KM, Stockinger B. Effector T cell plasticity: flexibility in the face of changing circumstances. *Nat Immunol*. 2010;11:674–680.

Patel DD, Kuchroo VK. Th17 cell pathway in human immunity: lessons from genetics and therapeutic interventions. *Immunity*. 2015;43:1040–1051.

Paul WE, Zhu J. How are T(H)2-type immune responses initiated and amplified? *Nat Rev Immunol*. 2010;10:225–235.

Pulendran B, Artis D. New paradigms in type 2 immunity. *Science*. 2012;337:431–435.

Sallusto F. Heterogeneity of human CD4(+) T cells against microbes. *Annu Rev Immunol*. 2016;34:317–334.

Schmitt N, Ueno H. Regulation of human helper T cell subset differentiation by cytokines. *Curr Opin Immunol*. 2015;34:130–136.

Steinman L. A brief history of T(H)17, the first major revision in the T(H)1/T(H)2 hypothesis of T cell-mediated tissue damage. *Nat Med*. 2007;13:139–145.

Tubo NJ, Jenkins MK. TCR signal quantity and quality in CD4 T cell differentiation. *Trends Immunol*. 2014;35:591–596.

Wynn TA. Type 2 cytokines: mechanisms and therapeutic strategies. *Nat Rev Immunol*. 2015;15:271–282.

Zhu J, Yamane H, Paul WE. Differentiation of effector CD4 T cell populations. *Annu Rev Immunol*. 2010;28:445–489.

Ativação de Macrófagos

Billiau A, Matthys P. Interferon-gamma: a historical perspective. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2009;20:97–113.

Gordon S, Martinez FO. Alternative activation of macrophages: mechanism and functions. *Immunity*. 2010;32:593–604.

Sica A, Mantovani A. Macrophage plasticity and polarization: in vivo veritas. *J Clin Invest*. 2012;122:787–795.

Van Dyken SJ, Locksley RM. Interleukin-4- and interleukin-13 -mediated alternatively activated macrophages: roles in homeostasis and disease. *Annu Rev Immunol*. 2013;31:317–343.

Wynn TA, Chawla A, Pollard JW. Macrophage biology in development, homeostasis and disease. *Nature*. 2013;496:445–455.

Outras Populações de Célula T

Chien YH, Meyer C, Bonneville M. γδ T cells: first line of defense and beyond. *Annu Rev Immunol*. 2014;32:121–155.

Godfrey DI, Uldrich AP, McCluskey J, et al. The burgeoning family of unconventional T cells. *Nat Immunol*. 2015;16:1114–1123.

Mori L, Lepore M, De Libero G. The immunology of CD1- and MR1 -restricted T cells. *Annu Rev Immunol*. 2016;34:479–510.

Vantourout P, Hayday A. Six-of-the-best: unique contributions of gammadelta T cells to immunology. *Nat Rev Immunol*. 2013;13:88–100.

CAPÍTULO 11

Diferenciação e Funções das Células T $CD8^+$ Efetoras

DIFERENCIAÇÃO DAS CÉLULAS T $CD8^+$ EM LINFÓCITOS T CITOTÓXICOS
- Natureza dos Antígenos e das Células Apresentadoras de Antígeno para Ativação dos Linfócitos T $CD8^+$
- Papel das Células T Auxiliares
- Papel das Citocinas
- Inibição das Respostas de Células T $CD8^+$: Exaustão das Células T

FUNÇÕES EFETORAS DOS LINFÓCITOS T $CD8^+$ CITOTÓXICOS
- Mecanismos de Citotoxicidade Mediada por CTLs
- Produção de Citocinas pelas Células T $CD8^+$ Efetoras

FUNÇÕES DOS CTLS $CD8^+$ NA DEFESA DO HOSPEDEIRO

RESUMO

Os vírus evoluíram de maneira a utilizar várias moléculas da superfície celular para invadir as células do hospedeiro e usar a maquinaria genética e de síntese proteica dessas células para se replicar e disseminar de uma célula para outra. Os vírus podem infectar e sobreviver em uma ampla variedade de células. Os vírus não podem ser destruídos se as células infectadas não forem fagócitos dotados de mecanismos microbicidas

lisossomais intrínsecos. Mesmo nos fagócitos, caso estejam no citosol, os vírus são inacessíveis a esses mecanismos de morte. Nessas situações, a única maneira de erradicar a infecção estabelecida é matar a célula infectada, incapacitando a sobrevivência e a replicação viral. No sistema imune adaptativo, essa função de *killing* de células que abrigam vírus é mediada pelos **linfócitos T citotóxicos (CTLs, do inglês, *cytotoxic T lymphocytes*)**, as células efetoras da linhagem T $CD8^+$ (Fig. 10.1B). O mesmo mecanismo é usado para eliminar fagócitos contendo bactérias ingeridas que escapam dos fagossomos para o citosol e deixam de ser suscetíveis à atividade de *killing* dos fagócitos. Nas reações imunes inatas, a mesma função de *killing* de células infectadas é mediada por células *natural killer* (NK) (Capítulo 4).

Além do seu papel na defesa contra microrganismos, outra função importante dos CTLs $CD8^+$ é a erradicação de tumores. Os CTLs também desempenham papéis fundamentais na rejeição aguda a aloenxertos de órgãos.

No Capítulo 6, discutimos a natureza dos complexos peptídeo-MHC que são reconhecidos por células T $CD8^+$. Abordamos os passos iniciais da ativação de células T no Capítulo 9, onde mencionamos algumas características da ativação de células $CD8^+$, incluindo sua notável expansão clonal após a ativação por antígenos e outros sinais. A diferenciação das células $CD8^+$ *naive*, que não têm capacidade de realizar *killing*, em CTLs funcionais apresenta várias características especiais. Neste capítulo, descreveremos como os CTLs são gerados a partir de células $CD8^+$ *naive*, como eles matam outras células e, em seguida, discutiremos os papéis dos CTLs na defesa do hospedeiro.

Diferenciação das Células T CD8$^+$ em Linfócitos T Citotóxicos

A diferenciação das células T CD8$^+$ em CTLs efetores envolve a aquisição da maquinaria para matar as células-alvo. A célula infectada ou tumoral morta pelos CTLs é geralmente chamada célula-alvo. As células CD8$^+$ *naive* reconhecem antígenos, mas precisam proliferar e se diferenciar para gerarem um conjunto suficientemente grande de CTLs para destruir a fonte do antígeno. Dentro do citoplasma dos CTLs diferenciados, existem numerosos lisossomos modificados (denominados grânulos) que contêm proteínas, incluindo perforinas e granzimas, cuja função é matar as células-alvo (descrito mais adiante). Além disso, os CTLs diferenciados são capazes de secretar citocinas, principalmente interferon-γ (IFN-γ), que ativam os fagócitos.

Os eventos moleculares da diferenciação dos CTLs envolvem a transcrição de genes que codificam essas moléculas efetoras. Dois fatores de transcrição necessários para esse programa de expressão de novos genes são T-bet (cuja função em relação à diferenciação para Th1 foi discutida no Capítulo 10) e a eomesodermina, que é estruturalmente relacionada ao T-bet. O T-bet e a eomesodermina contribuem para o elevado nível de expressão de perforina, granzimas e algumas citocinas, especialmente o IFN-γ.

A ativação de células T CD8$^+$ *naive* requer o reconhecimento do antígeno e sinais secundários, e prossegue em passos muito semelhantes àqueles das respostas de células T CD4$^+$ (Fig. 11.1). No entanto, a ativação de células T CD8$^+$ *naive* tem duas características únicas — muitas vezes é dependente da via de apresentação cruzada da apresentação de antígenos por uma subpopulação especializada de células dendríticas (DCs, do inglês *dendritic cells*) e também pode requerer ajuda das células T CD4$^+$.

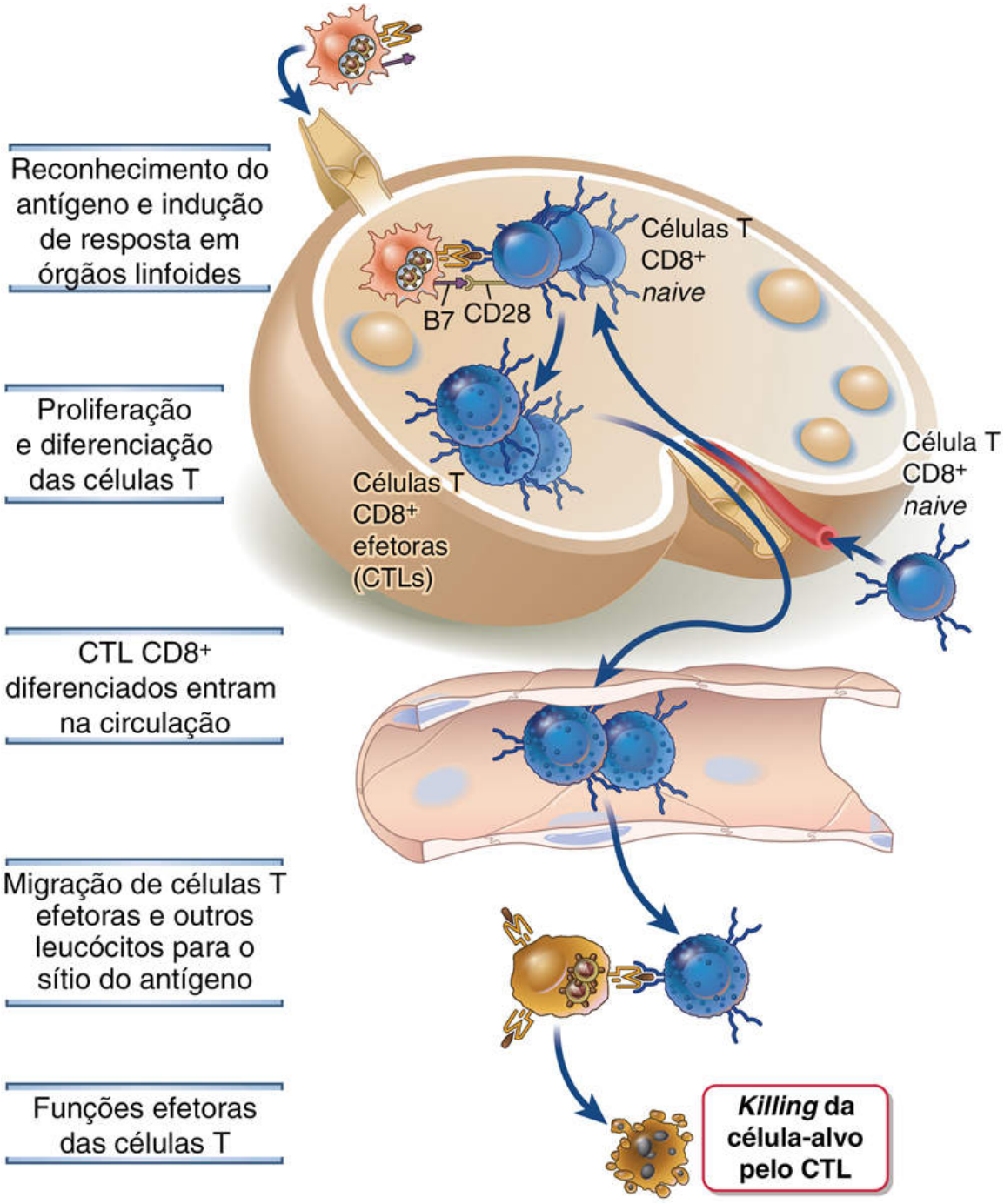


FIGURA 11.1 Fases de indução e efetora das respostas de células T CD8+.

As células T CD8+ reconhecem os antígenos apresentados por DCs nos órgãos linfoides periféricos e são estimuladas a proliferar e se diferenciar em células efetoras (linfócitos T citotóxicos, CTLs) e de memória. Os CTLs migram para os sítios de infecção teciduais, de crescimento tumoral ou de rejeição ao enxerto, onde reconhecem o

antígeno e respondem realizando o *killing* das células nas quais o antígeno é produzido.

Natureza dos Antígenos e das Células Apresentadoras de Antígeno para Ativação dos Linfócitos T CD8$^+$

A ativação das células T CD8$^+$* naive*, assim como a ativação das células T CD4$^+$* naive*, é melhor iniciada por antígenos apresentados por DCs. Esse requisito levanta o problema de que os antígenos reconhecidos pelas células T CD8$^+$ podem ser vírus que infectam muitos tipos celulares, incluindo outras células além das DCs, ou podem ser antígenos de tumores que também são derivados de uma variedade de tipos celulares. A apresentação de antígenos para as células T CD8$^+$ via moléculas de MHC de classe I requer que os antígenos proteicos estejam presentes no citosol das células contendo o antígeno, de modo que essas proteínas possam ser degradadas em proteassomos, para, em seguida, entrarem no retículo endoplasmático por meio do transportador TAP. Quando um vírus infecta um tipo particular de célula, como uma célula do fígado, os antígenos virais serão apresentados por moléculas de MHC de classe I naquela célula. Porém a maioria dos vírus é incapaz de infectar DCs, e as proteínas codificadas por esses vírus não serão produzidas no citosol das DCs. Além disso, as células T *naive* respondem melhor aos antígenos apresentados por DCs. Como discutimos no Capítulo 6, o sistema imune lida com esse problema por meio do processo de apresentação cruzada. Nesse processo, as DCs especializadas ingerem as células infectadas, células tumorais ou proteínas expressas por essas células, transferem os antígenos proteicos para o citosol e processam os antígenos para a entrada na via do MHC de classe I de apresentação antigênica para o reconhecimento por células T CD8$^+$ (Fig. 6.17). Apenas algumas subpopulações de DCs são eficientes na apresentação cruzada e, consequentemente, essas subpopulações são cruciais para a ativação de células T CD8$^+$ *naive*. Resultados obtidos a partir de experimentos em camundongos sugerem que as APCs mais eficientes em realizar a apresentação cruzada são as DCs de tecidos linfoides que expressam CD8 ou a subpopulação de tecido periférico que expressa a integrina CD103 (Capítulo 6). As DCs especializadas em fazer apresentação cruzada correspondentes nos tecidos humanos expressam altos níveis de CD141,

também conhecido como BDCA-3. Além disso, as DCs plasmacitoides podem também realizar apresentação cruzada de proteínas derivadas de vírus presentes para as células T $CD8^+$ *naive*.

Além da apresentação de antígenos na forma de complexos peptídeo-MHC, as DCs também proporcionam coestimulação via B7 ou outras moléculas (Capítulo 9).

Papel das Células T Auxiliares

A ativação completa de células T CD8 **naive** ***e sua diferenciação em CTLs funcionais e células de memória podem requerer a participação de células CD4*** ***auxiliares.*** A necessidade de células auxiliares varia de acordo com o tipo de exposição antigênica. No cenário de uma intensa resposta imune inata a um microrganismo, ou se as APCs estiverem diretamente infectadas pelo microrganismo, as células T $CD4^+$ auxiliares podem não ser essenciais. As células T $CD4^+$ auxiliares são necessárias para respostas de células T $CD8^+$ contra infecções virais latentes, transplantes de órgãos e tumores, as quais tendem a provocar reações relativamente fracas da imunidade inata. A importância variável das células T $CD4^+$ para o desenvolvimento de respostas por CTLs é ilustrada por estudos utilizando camundongos, nos quais as células T auxiliares estão ausentes. Nesses camundongos, algumas infecções virais falham em gerar CTLs eficazes ou células T $CD8^+$ de memória, não sendo erradicadas, ao passo que outros vírus estimulam respostas eficazes de CTL. A ausência da função de células T $CD4^+$ auxiliares explica os defeitos na geração de CTLs observados em indivíduos infectados pelo HIV, que infecta e elimina apenas as células T $CD4^+$. Existem também evidências de que as células T auxiliares $CD4^+$ são mais importantes para a geração de células T $CD8^+$ de memória do que para a diferenciação de células T $CD8^+$ *naive* em CTLs efetores.

As células T auxiliares promovem a ativação das células T $CD8^+$ por meio de diversos mecanismos (Fig. 11.2). As células T auxiliares podem secretar citocinas que estimulam a diferenciação das células T $CD8^+$. A natureza dessas citocinas será discutida na próxima seção. As células T auxiliares ativadas expressam o ligante de CD40 (CD40L), o qual pode ligar-se a CD40 nas DCs carregadas com antígenos. Essa interação ativa as APCs e as torna mais eficientes na estimulação da diferenciação de células T $CD8^+$, em parte, induzindo a expressão dos coestimuladores. Esse processo tem sido denominado *licenciamento* das APCs.

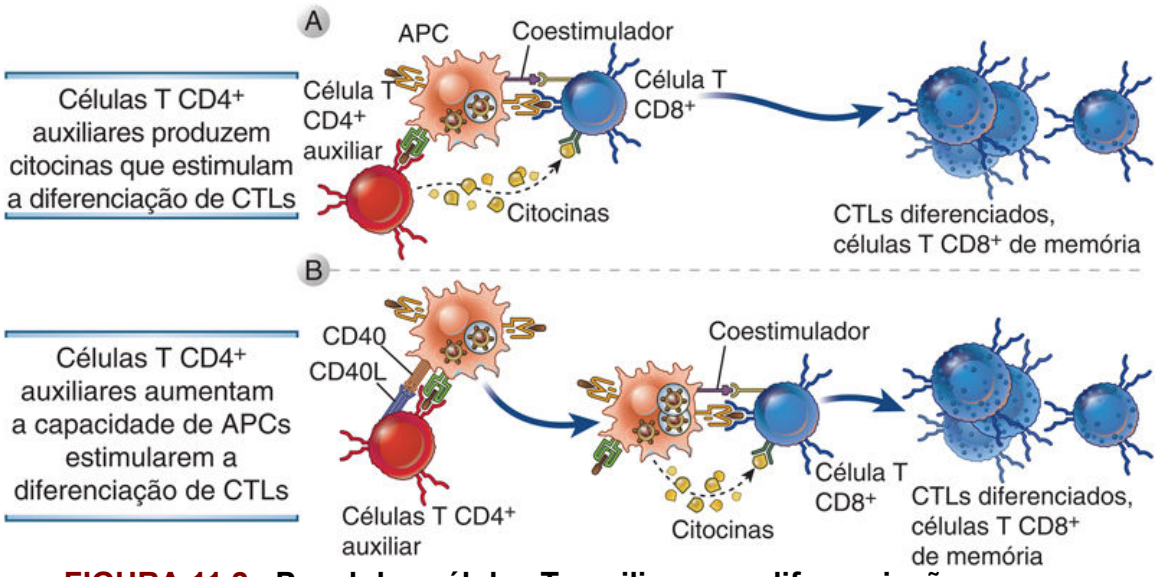


FIGURA 11.2 Papel das células T auxiliares na diferenciação de linfócitos T CD8$^+$.
As células T CD4$^+$ auxiliares promovem o desenvolvimento de CTLs CD8$^+$ e células de memória por meio da secreção de citocinas, que atuam diretamente sobre as células CD8$^+$ **(A)** ou ativando APCs para se tornarem mais eficientes na estimulação da diferenciação das células T CD8$^+$, por exemplo, aumentando a expressão de coestimuladores nas APCs **(B)**.

Papel das Citocinas

Várias citocinas contribuem para a diferenciação das células T CD8$^+$ e para a manutenção de células efetoras e de memória dessa linhagem.

- A IL-2 produzida pelas próprias células T CD8$^+$ ou pelas células T CD4$^+$ auxiliares promove a proliferação das células T CD8$^+$ e sua diferenciação em CTLs e células de memória. As células T CD8$^+$ expressam as cadeias β e γ do receptor de IL-2 e podem expressar níveis elevados da cadeia α após a ativação (Capítulo 9).
- Tanto a IL-12 quanto IFNs do tipo I são capazes de estimular a diferenciação de células T CD8$^+$ *naives* em CTLs efetores. Essas citocinas podem ser produzidas por diferentes populações de DCs durante a resposta imune inata a infecções virais e algumas infecções bacterianas. Recorde-se que as mesmas citocinas estão envolvidas na diferenciação de células T CD4$^+$ em células Th1. As citocinas promovem o desenvolvimento dessas duas populações

efetoras estimulando a expressão dos fatores de transcrição relacionados T-bet (para as células Th1 e CTLs) e eomesodermina (para CTLs).

- A IL-15 é importante para a sobrevivência das células T $CD8^+$ de memória e pode ser produzida por muitos tipos celulares, incluindo as DCs. Camundongos que não expressam IL-15 apresentam uma perda significativa de células T $CD8^+$ de memória.
- A IL-21 produzida por células T $CD4^+$ ativadas participa da indução de células T $CD8^+$ efetoras e de memória.

Inibição das Respostas de Células T $CD8^+$: Exaustão das Células T

Em algumas infecções virais crônicas, respostas de células T $CD8^+$ são geradas, porém gradualmente extintas, um fenômeno chamado exaustão (Fig. 11.3). O termo *exaustão* tem sido utilizado para indicar que a resposta efetora se inicia, mas é finalizada (ao contrário da *tolerância*, quando os linfócitos falham em se tornar células efetoras). Esse fenômeno de exaustão foi descrito pela primeira vez em uma infecção viral crônica em camundongos e associado à persistência prolongada do vírus.

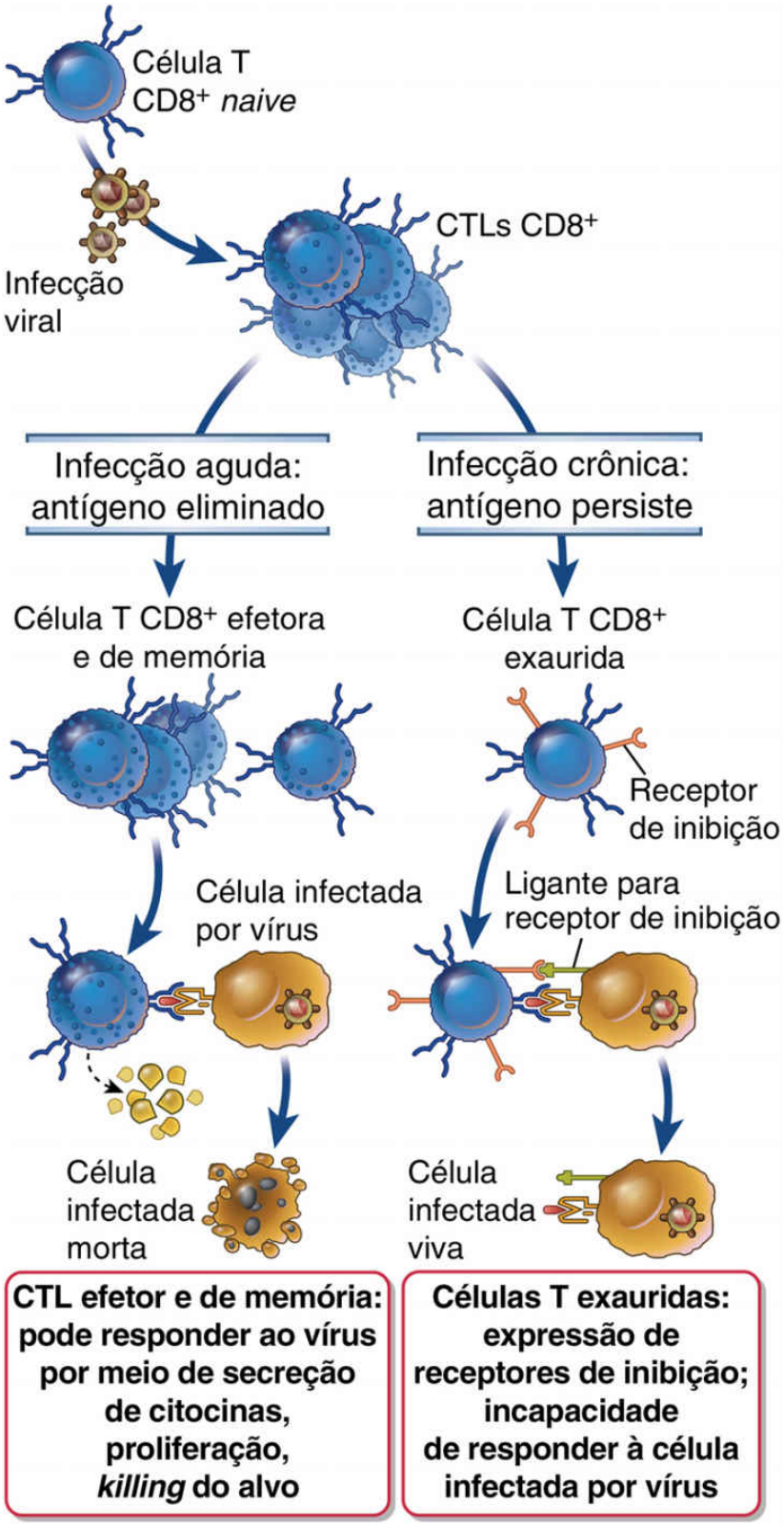


FIGURA 11.3 Exaustão das células T.
Em infecções agudas, as células T CD8+ diferenciam-se em CTLs que eliminam as células infectadas. Em situações de exposição

antigênica persistente ou crônica, a resposta das células T $CD8^+$ é suprimida pela expressão e acoplamento de PD-1 e outros receptores de inibição.

A exaustão de células T se desenvolve como resultado da exposição persistente ao antígeno. As células T $CD8^+$ que sofreram exaustão têm numerosos defeitos funcionais, como proliferação diminuída, redução da produção de IFN-γ, atividade citotóxica fraca e, assim, são incapazes de erradicar infecções. As células expressam altos níveis de múltiplos receptores de inibição, particularmente PD-1 (Capítulo 9), mas também CTLA-4, Tim-3, Lag-3 e outros. As células também expressam fatores de transcrição associados a células efetoras e de memória, incluindo T-bet e eomesodermina, mas permanecem funcionalmente inativas. O bloqueio de PD-1 reverte o estado inativo, sugerindo que a exaustão pode ser causada por sinais de inibição através de PD-1 e, talvez, outros receptores inibidores. O mesmo fenômeno de exaustão das células T pode contribuir para a cronicidade de algumas infecções virais em seres humanos, como HIV e vírus da hepatite C (HCV), e para a capacidade de alguns tumores evadirem a resposta imune (Capítulo 18). O fenômeno de exaustão das células T pode ter evoluído para atenuar as consequências de dano tecidual em infecções virais crônicas.

Funções Efetoras dos Linfócitos T CD8$^+$ Citotóxicos

Os CTLs CD8$^+$ eliminam microrganismos intracelulares principalmente pelo* killing *de células infectadas (Fig. 10.1B). Além da morte celular direta, as células T CD8$^+$ secretam IFN-γ e, em alguns casos, IL-17, e assim contribuem para a ativação clássica dos macrófagos e inflamação na defesa do hospedeiro, e em reações de hipersensibilidade. Aqui, abordaremos os mecanismos pelos quais os CTLs diferenciados matam as células portadoras de microrganismos.

Mecanismos de Citotoxicidade Mediada por CTLs

O* killing *mediado por CTLs envolve o reconhecimento específico de células-alvo e a liberação de proteínas que induzem morte celular. Os CTLs destroem os alvos que expressam o mesmo antígeno associado ao MHC de classe I que desencadeou a proliferação e diferenciação das células T CD8$^+$ *naive* das quais derivam. O *killing* pelos CTLs é altamente antígeno-específico e as células adjacentes, não infectadas e que não expressam o antígeno, não são prejudicadas. Essa especificidade de *killing* ocorre porque uma região de contato próximo, conhecida como **sinapse imunológica**, é formada entre o CTL e a célula-alvo que expressa o antígeno (Capítulo 7), de modo que as moléculas que realmente executam o *killing* são secretadas na sinapse e não se difundem para as outras células vizinhas.

O processo de *killing* dos alvos mediado por CTLs consiste no reconhecimento do antígeno, ativação dos CTLs, execução do "golpe letal" que mata as células-alvo e liberação do CTLs (Fig. 11.4). Cada uma dessas etapas é controlada por interações moleculares específicas.

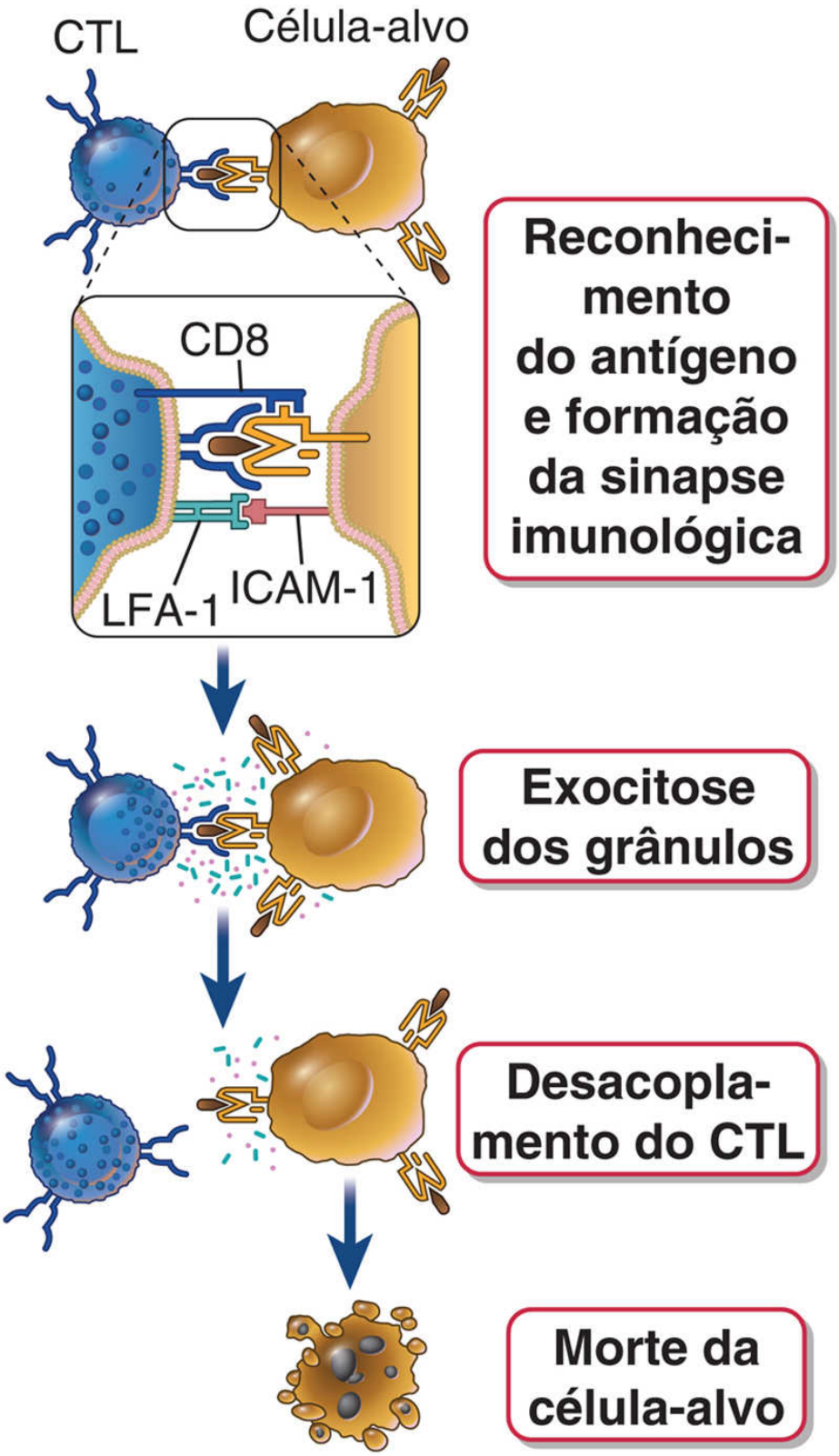


FIGURA 11.4 **Etapas da lise de células-alvo mediada por CTLs.** Um CTL reconhece a célula-alvo que expressa o antígeno e é ativado. A ativação resulta na liberação do conteúdo granular do

CTL na célula-alvo por meio da área de contato (sinapse imunológica). O conteúdo dos grânulos executa o “golpe letal” no alvo. O CTL pode desacoplar e matar outras células-alvo. A formação de conjugados entre um CTL e seu alvo e a ativação do CTL também requerem interações entre moléculas acessórias (LFA-1, CD8) expressas no CTL e seus ligantes específicos (ICAM-1 e MHC de classe I, respectivamente) expressos na célula-alvo (*não mostrados*).

Reconhecimento de Antígenos e Ativação de CTLs

Os CTLs se ligam e reagem com a célula-alvo por meio de seu receptor antigênico, do correceptor (CD8) e de moléculas de adesão. Para serem eficientemente reconhecidas pelos CTLs, as células-alvo devem expressar moléculas do MHC de classe I exibindo um peptídeo (o complexo peptídeo-MHC atua como um ligante para o receptor de células T [TCR, do inglês, *T cell receptor*] e também se liga ao correceptor CD8). A adesão dos CTLs aos alvos e a formação da sinapse imunológica são estabilizadas por um anel de integrinas formado especialmente por LFA-1 (do inglês, *leukocyte function associated antigen 1*), presente nos CTLs, e seu ligante ICAM 1 (do inglês, *intercellular adhesion molecule 1*), presente na célula-alvo (Fig. 11.5). No interior do anel, existe um espaço fechado entre as membranas das duas células. Regiões distintas da membrana do CTL podem ser observadas dentro do anel por meio de microscopia de imunofluorescência, incluindo um trecho de sinalização, que engloba o TCR, proteínas sinalizadoras (como a proteína quinase C-θ e a tirosina quinase Lck) e uma região secretora que aparece como um espaço em um dos lados do trecho de sinalização. Essa interação resulta na iniciação de sinais bioquímicos que ativam o CTL, os quais são essencialmente os mesmos sinais envolvidos na ativação de células T auxiliares. Citocinas e coestimuladores fornecidos pelas DCs, necessários para a diferenciação de células T $CD8^+$ *naive* em CTLs, não são requeridos para desencadear a função efetora dos CTLs (i.e., *killing* da célula-alvo). Portanto, uma vez que as células T $CD8^+$ específicas para um antígeno tenham se diferenciado em CTLs totalmente funcionais, elas podem matar qualquer célula nucleada que exiba este antígeno.

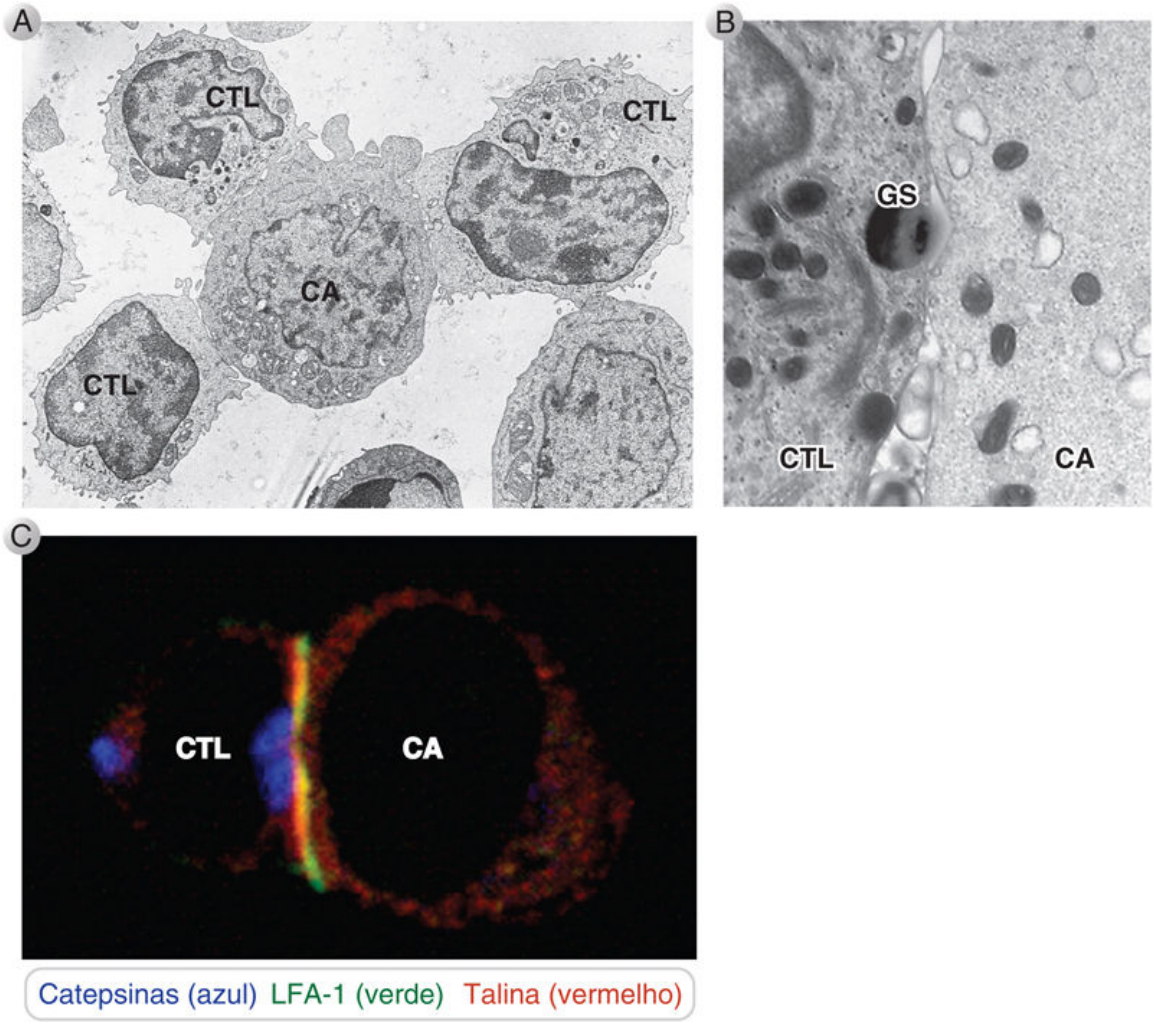


FIGURA 11.5 Formação de conjugados entre os CTLs e as células-alvo.

A, Micrografia eletrônica de três CTLs, derivados de uma linhagem celular clonada, específicos para a molécula de MHC humana HLA-A2, ligando-se a uma célula-alvo (CA) expressando HLA-A2, um minuto após a mistura dos CTLs e dos alvos. Note que no CTL do canto superior esquerdo, os grânulos foram redistribuídos na direção da célula-alvo. **B**, Micrografia eletrônica do ponto de contato entre a membrana do CTL (*esquerda*) e da célula-alvo (*direita*). Dois grânulos do CTL (GS, grânulos secretores) estão próximos à sinapse. Várias mitocôndrias também são visíveis. **C**, Micrografia de fluorescência confocal de uma sinapse imunológica entre um CTL (*esquerda*) e uma célula-alvo (*direita*) marcados com anticorpos contra as catepsinas presentes em um grânulo secretor (*azul*), LFA-1 (*verde*) e a proteína talina do citoesqueleto (*vermelho*). A imagem mostra a localização central do grânulo secretor e a localização periférica da molécula de adesão LFA-1, bem como da proteína talina associada ao citoesqueleto. (**A**, cortesia do Dr. P. Peters,

Netherlands Cancer Institute, Amsterdam; **B**, de Stinchcombe JC, Bossi G, Booth S, Griffiths GM: The immunological synapse of CTL contains a secretory domain and membrane bridges, Immunity 8:751-761, 2001. Copyright Cell Press, com permissão de Elsevier; **C**, de Stinchcombe JC, Griffiths GM: The role of the secretory immunological synapse in killing by $CD8^+$ CTL, Seminars in Immunology 15:301-205. Copyright 2003 Elsevier Science Ltd.).

Além do TCR, os CTLs $CD8^+$ expressam receptores que também são expressos pelas células NK, os quais contribuem para a regulação e ativação dos CTLs. Alguns desses receptores pertencem à família dos receptores de morte do tipo imunoglobulina (KIR, do inglês, *killer immunoglobulin receptor*), discutidos no Capítulo 4, e reconhecem as moléculas do MHC de classe I em células-alvo, mas não são específicos para um determinado complexo peptídeo-MHC. Estes KIRs transduzem sinais de inibição que podem atuar para prevenir o *killing* de células normais pelos CTLs. Além disso, os CTLs expressam o receptor NKG2D, que reconhece as moléculas do tipo MHC de classe I MIC-A, MIC-B e ULBP, expressas em células submetidas ao estresse (infectadas ou transformadas). O NKG2D pode fornecer sinais que agem em conjunto com o reconhecimento do antígeno pelo TCR para aumentar a atividade de *killing*.

Morte das Células-alvo por CTLs

O principal mecanismo de* killing *da célula-alvo mediada por CTLs é a liberação de proteínas citotóxicas armazenadas dentro de grânulos citoplasmáticos (também chamados lisossomos secretores) sobre a célula-alvo, desencadeando a apoptose da mesma (Fig. 11.6)**.** Dentro de alguns minutos após o receptor e o correceptor antigênicos de um CTL reconhecerem o complexo peptídeo-MHC em uma célula-alvo, as proteínas dos grânulos do CTL entram na célula-alvo e a morte ocorre nas 2 a 6 horas seguintes, mesmo se houver desacoplamento do CTL. Assim, é dito que o CTL executa um "golpe letal" na célula-alvo. Quando o CTL reconhece o antígeno, os sinais originados do TCR causam a reorganização do citoesqueleto. Nesse processo, o centro organizador dos microtúbulos do CTL se move para a área do citoplasma próxima à área de contato com a célula-alvo. Os grânulos citoplasmáticos do CTL são transportados ao longo dos microtúbulos e se concentram na região da sinapse, e a membrana dos grânulos se funde à membrana plasmática no domínio secretor. A fusão de membranas resulta na exocitose do conteúdo presente

nos grânulos dos CTLs para o espaço confinado no interior do anel sináptico, entre as membranas plasmáticas do CTL e da célula-alvo.

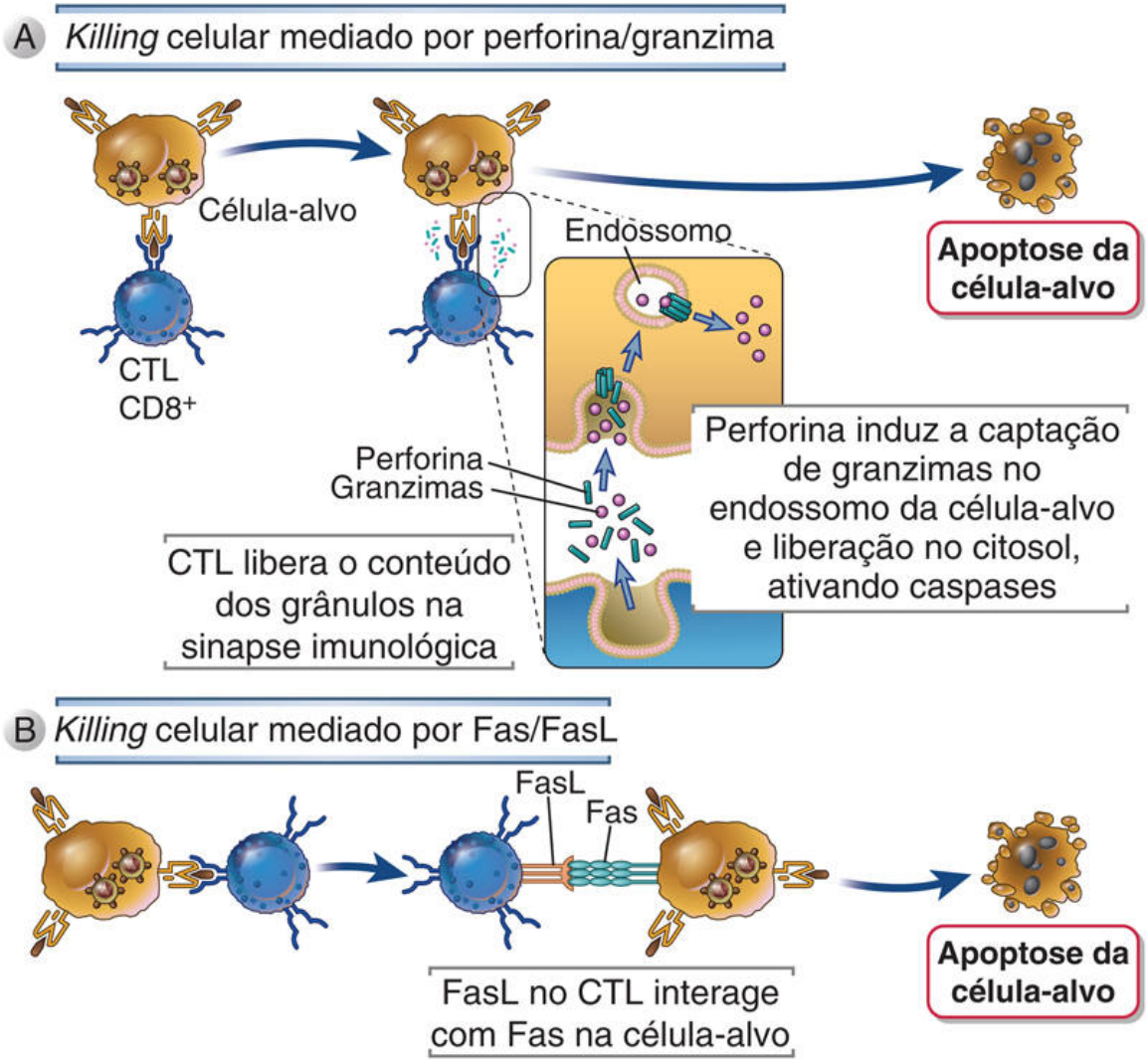


FIGURA 11.6 Mecanismos de *killing* das células-alvo mediados por CTLs.
Os CTLs matam as células-alvo por dois mecanismos principais. **A**, Complexos de perforina e granzimas são liberados do CTL por exocitose dos grânulos e entram nas células-alvo. As granzimas são liberadas no citoplasma das células-alvo por um mecanismo dependente de perforina e induzem a apoptose. **B**, O FasL é expresso em CTLs ativados, liga-se ao Fas expresso na superfície das células-alvo e induz a apoptose.

As principais proteínas citotóxicas dos grânulos dos CTLs (e das células NK) são granzimas e perforina. As **granzimas** A, B, e C são serina

proteases. A granzima B cliva proteínas após os resíduos de aspartato, sendo a única inequivocamente necessária para a citotoxicidade do CTL *in vivo*, podendo clivar e ativar as caspases que induzem morte celular. A **perforina** é uma molécula causadora de perturbação membranar, homóloga a proteína C9 do complemento. Os grânulos também contêm uma proteoglicana sulfatada, **serglicina**, que serve para manter as granzimas e a perforina em um estado inativo.

A principal função da perforina é facilitar a entrega das granzimas para dentro do citosol da célula-alvo. A maneira pela qual isso é feito ainda não é bem compreendida. A perforina pode se polimerizar e formar poros aquosos na membrana da célula-alvo, mas esses poros podem não ser de tamanho suficiente para permitir a entrada das granzimas. De acordo com um modelo vigente, os complexos de granzima B, perforina e serglicina são descarregados pelos CTLs nas células-alvo, e a inserção da perforina na membrana da célula-alvo provoca um processo de reparo da membrana, que leva à internalização tanto da perforina quanto das granzimas nos endossomos. A perforina pode, então, atuar sobre a membrana endossomal facilitando a liberação das granzimas no citosol da célula-alvo. Uma vez no citosol, as granzimas clivam vários substratos, incluindo caspases, iniciando a morte apoptótica da célula. Por exemplo, a granzima B cliva e ativa a caspase 3, assim como um membro da família Bcl-2, denominado Bid, que desencadeia a via mitocondrial de apoptose (Fig. 15.8). Outra proteína encontrada nos grânulos de CTLs (e das células NK) humanos, chamada **granulisina**, pode alterar a permeabilidade das membranas microbianas e das células-alvo, contribuindo para o *killing* de células infectadas ou tumorais.

Os CTLs também usam um mecanismo de morte independente de grânulos, mediado por interações entre as moléculas da membrana dos CTLs e das células-alvo. Durante sua ativação, os CTLs expressam uma proteína de membrana denominada **ligante de Fas (FasL)**, que se liga ao receptor de morte Fas, expresso em muitos tipos celulares. Essa interação também resulta na ativação de caspases e indução de apoptose dos alvos expressando Fas (Fig. 15.9). Estudos com camundongos *knockout* para perforina, granzima B ou FasL indicam que a perforina e a granzima B são os principais mediadores do *killing* por CTLs $CD8^+$.

Após a execução do "golpe letal", o CTL se desacopla da sua célula-alvo, o que geralmente ocorre mesmo antes da morte da célula-alvo. Os CTLs em si não sofrem danos durante o *killing* da célula-alvo, provavelmente porque o processo de exocitose dirigida dos grânulos durante o *killing* mediado por CTLs, preferencialmente, distribui os conteúdos dos grânulos

sobre a célula-alvo, mas distante do CTL. Além disso, os grânulos do CTL contêm uma enzima proteolítica denominada catepsina B, que é exposta na superfície do CTL durante a exocitose dos grânulos, onde degrada as moléculas errantes de perforina que aparecem na vizinhança da membrana do CTL.

Produção de Citocinas pelas Células T $CD8^+$ Efetoras

As células T $CD8^+$ produzem IFN-γ, uma citocina ativadora de macrófagos. De fato, a secreção de IFN-γ em resposta a peptídeos específicos é um ensaio sensível para a avaliação da frequência de células T $CD8^+$ antígeno-específicas em uma população de linfócitos. É provável que tanto células Th1 $CD4^+$ quanto T $CD8^+$ contribuam para a depuração fagocítica de microrganismos ingeridos induzida por IFN-γ. As células $CD8^+$ podem também desempenhar um papel em algumas reações inflamatórias induzidas por citocinas, tais como reações cutâneas de sensibilidade de contato induzida por substâncias químicas ambientais, em que as células T $CD8^+$ produtoras de IFN-γ frequentemente chegam mais cedo e em maior número do que as células T $CD4^+$. As células T $CD8^+$ produtoras de IL-17 são abundantes em algumas doenças inflamatórias cutâneas, como a psoríase.

Funções dos CTLs $CD8^+$ na Defesa do Hospedeiro

Em infecções causadas por microrganismos intracelulares, a atividade de* killing *dos CTLs é importante para a erradicação do reservatório de infecção (Fig. 10.1B). Isso é particularmente importante em dois tipos de situações nas quais as células não podem destruir os microrganismos que as infectam. Primeiro, a maioria dos vírus vive e se replica em células que não têm a maquinaria fagossomo/lisossomo para destruição de microrganismos (tais como os vírus da hepatite em hepatócitos). Segundo, mesmo nos fagócitos, alguns microrganismos escapam das vesículas e vivem no citosol, onde os mecanismos microbicidas são ineficazes, uma vez que são em grande parte restritos a vesículas (para proteger as células do hospedeiro contra danos). Essas infecções podem ser eliminadas apenas pela destruição das células infectadas, e em respostas imunes adaptativas, os CTLs $CD8^+$ constituem o principal mecanismo para o *killing* de células infectadas (Fig. 16.4). Bactérias como *Mycobacterium tuberculosis* e *Listeria monocytogenes* são exemplos de microrganismos que escapam das vesículas e entram no citosol de células infectadas. Além disso, as caspases ativadas nas células-alvo por granzimas e FasL clivam vários substratos e ativam enzimas que degradam o DNA, mas não distinguem entre as moléculas do hospedeiro e as microbianas. Portanto, por meio da ativação de nucleases nas células-alvo, os CTLs podem iniciar a destruição do DNA microbiano, bem como do genoma da célula-alvo, eliminando, desse modo, o DNA potencialmente infeccioso. A enorme expansão de células T $CD8^+$ que ocorre durante as infecções (Fig. 9.12) fornece um grande *pool* de CTLs para combatê-las. Defeitos no desenvolvimento e na atividade dos CTLs resultam em aumento da suscetibilidade a infecções virais e algumas infecções bacterianas, e reativação de infecções virais latentes (como a infecção pelo vírus Epstein-Barr), que normalmente são mantidas sob controle pelos CTLs vírus-específicos.

A destruição de células infectadas por CTLs é uma causa de lesão tecidual em algumas doenças infecciosas. Por exemplo, nos casos de infecção pelos vírus da hepatite B e C, os hepatócitos infectados são destruídos pela resposta mediada por CTLs (e células NK) do hospedeiro e não pelos vírus. Esses vírus não são altamente citopáticos, mas o hospedeiro "percebe" e reage contra o microrganismo infeccioso e não é

capaz de distinguir os microrganismos que são intrinsecamente nocivos ou relativamente inofensivos (Capítulo 19). Os CTLs podem contribuir para a imunopatologia associada a muitas outras infecções virais comuns, como a gripe.

Os CTLs são importantes mediadores da imunidade contra tumores, como discutido no Capítulo 18. Além das funções protetoras, os CTLs $CD8^+$ contribuem para a destruição tecidual em algumas doenças autoimunes (Capítulo 19) e para a rejeição de enxertos teciduais (Capítulo 17).

As mutações hereditárias que interferem com a função de CTL, como mutações na perforina, estão associadas à forma familiar de uma doença rara chamada linfo-histiocitose hemofagocítica. Nessa doença, os CTL ativados pelo antígeno viral secretam IFN-γ, mas não matam as células infectadas pelo vírus porque não conseguem executar o "golpe letal". Assim, há persistência do antígeno viral, produção crônica de IFN-γ pelas células T $CD8^+$ e ativação excessiva dos macrófagos pelo IFN-γ. A ativação severa e prolongada dos macrófagos está por trás das manifestações da doença, incluindo o aumento do baço causado pelo aumento do número de macrófagos ativados ("linfo-histiocitose") que fagocitam e destroem as hemácias normais ("hemofagocitose").

Resumo

- As células T da subpopulação $CD8^+$ proliferam e se diferenciam em linfócitos T citotóxicos (CTLs), que expressam grânulos citotóxicos e podem matar células infectadas.
- A diferenciação das células T $CD8^+$ em CTLs funcionais e células de memória requer o reconhecimento do antígeno apresentado pelas DCs, sinais das células T $CD4^+$ auxiliares em algumas situações, coestimulação e citocinas. A diferenciação em CTLs envolve a aquisição da maquinaria necessária para matar as células-alvo e é dirigida por vários fatores de transcrição.
- Em algumas situações de exposição antigênica crônica (como tumores e infecções virais crônicas), as células T $CD8^+$ iniciam uma resposta, mas em seguida expressam receptores de inibição que suprimem a resposta, um processo chamado exaustão.
- Os CTLs $CD8^+$ matam as células que expressam peptídeos derivados de antígenos citosólicos (p. ex.: antígenos virais) que são apresentados em associação às moléculas do MHC de classe I. O *killing* mediado por CTLs ocorre principalmente pela exocitose de grânulos, que liberam granzimas e perforina. A perforina facilita a entrada de granzimas no citoplasma das células-alvo, e as granzimas iniciam o processo de apoptose.
- As células T $CD8^+$ também secretam IFN-γ e, portanto, podem participar na defesa contra microrganismos fagocitados e em reações de hipersensibilidade do tipo retardada (DTH, do inglês, *delayed-type hypersensitivity*).

Referências Sugeridas

Ativação das Células T CD8$^+$

Kaech SM, Cui W. Transcriptional control of effector and memory CD8+ T cell differentiation. *Nat Rev Immunol*. 2012;12:749–761.

Laidlaw BJ, Craft JE, Kaech SM. The multifaceted role of CD4(+) T cells in CD8(+) T cell memory. *Nat Rev Immunol*. 2016;16:102–111.

Tscharke DC, Croft NP, Doherty PC, La Gruta NL. Sizing up the key determinants of the CD8(+) T cell response. *Nat Rev Immunol*. 2015;15:705–716.

Wherry EJ, Kurachi M. Molecular and cellular insights into T cell exhaustion. *Nat Rev Immunol*. 2015;15:486–499.

Williams MA, Bevan MJ. Effector and memory CTL differentiation. *Annu Rev Immunol*. 2007;25:171–192.

Wong P, Pamer EG. CD8 T cell responses to infectious pathogens. *Annu Rev Immunol*. 2003;21:29–70.

Zhang N, Bevan MJ. CD8(+) T cells: foot soldiers of the immune system. *Immunity*. 2011;35:161–168.

Mecanismos de Citotoxicidade Mediada por CTLs

Bossi G, Griffiths GM. CTL secretory lysosomes: biogenesis and secretion of a harmful organelle. *Semin Immunol*. 2005;17:87–94.

Voskoboinik I, Whisstock JC, Trapani JA. Perforin and granzymes: function, dysfunction and human pathology. *Nat Rev Immunol*. 2015;15:388–400.

CAPÍTULO 12

Ativação da Célula B e Produção de Anticorpos

VISÃO GERAL DAS RESPOSTAS IMUNES HUMORAIS

RECONHECIMENTO ANTIGÊNICO E ATIVAÇÃO ANTÍGENO-INDUZIDA DA CÉLULA B

- Captura do Antígeno e Distribuição para as Células B
- Ativação de Células B por Antígenos e Outros Sinais

RESPOSTAS DE ANTICORPOS DEPENDENTES DE CÉLULA T AUXILIAR A ANTÍGENOS PROTEICOS

- Sequência de Eventos durante as Respostas de Anticorpos Dependentes de Célula T
- Ativação Inicial e Migração de Células B e T Auxiliares
- Apresentação do Antígeno por Células B e o Efeito Hapteno-Carreador
- Papel da Interação CD40L:CD40 na Ativação T-Dependente da Célula B
- Ativação de Célula B Extrafolicular
- A Reação de Centro Germinativo
- A Indução e as Funções das Células T Auxiliares Foliculares
- Troca de Isotipo (Classe) de Cadeia Pesada
- Maturação de Afinidade: Mutação Somática de Genes de Ig e Seleção de Células B de Alta Afinidade

Diferenciação da Célula B em Plasmócitos Secretores de Anticorpos
Geração de Células B de Memória
Papel de Reguladores Transcricionais na Determinação do Destino das Células B Ativadas

RESPOSTAS DE ANTICORPOS A ANTÍGENOS T-INDEPENDENTES
Subpopulações de Células B que Respondem a Antígenos T-Independentes
Mecanismos das Respostas de Anticorpos T-Independentes
Proteção Mediada por Anticorpos T-Independentes

FEEDBACK DE ANTICORPOS: REGULAÇÃO DAS RESPOSTAS IMUNES HUMORAIS POR RECEPTORES FC

RESUMO

A imunidade humoral é mediada por anticorpos secretados que são produzidos por células da linhagem dos linfócitos B. Este capítulo descreve os eventos moleculares e celulares da resposta imune humoral, em particular os estímulos indutores de proliferação e diferenciação de células B, e o modo como esses estímulos influenciam o tipo de anticorpo produzido. Os mecanismos pelos quais os anticorpos eliminam microrganismos são descritos no Capítulo 13.

Visão Geral das Respostas Imunes Humorais

A ativação de células B resulta em sua proliferação e diferenciação em plasmócitos secretores de anticorpo e células de memória (Fig. 12.1). As respostas imunes humorais são iniciadas pelo reconhecimento específico do antígeno pela célula B, em órgãos linfoides secundários. O antígeno se liga à imunoglobulina M (IgM) IgD de membrana em células B *naive* maduras, gerando os sinais requeridos para sua proliferação e diferenciação em plasmócitos. O anticorpo eventualmente secretado pelo plasmócito tem essencialmente a mesma especificidade que o anticorpo original que serviu de receptor antigênico na superfície da célula B *naive*. Em uma semana, uma única célula B pode originar até 5.000 células secretoras de anticorpo, as quais coletivamente produzem mais de 10^{12} moléculas de anticorpo por dia. Essa tremenda expansão é necessária para acompanhar o ritmo dos microrganismos, que se dividem rapidamente.

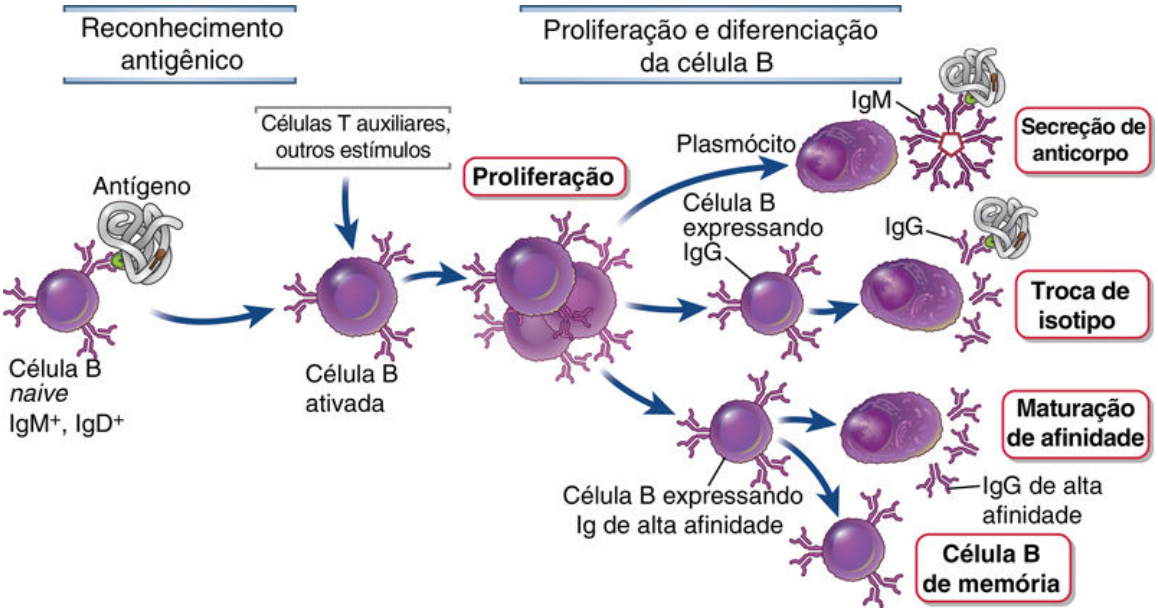


FIGURA 12.1 Fases da resposta imune humoral.
A ativação de células B é iniciada pelo reconhecimento específico de antígenos pelos receptores Ig de superfície nas células. O antígeno e outros estímulos, incluindo as células T auxiliares, estimulam a proliferação e diferenciação do clone de célula B específica. A progênie do clone pode se diferenciar em plasmócitos produtores de IgM ou outros isotipos de Ig (p. ex.: IgG), pode sofrer maturação de afinidade ou pode persistir como células de memória (que tipicamente também passa pela troca de classe e maturação de afinidade).

As respostas de anticorpo são T-dependentes ou T-independentes, dependendo da natureza do antígeno e do envolvimento de células T auxiliares (Fig. 12.2). As respostas aos antígenos proteicos requerem ajuda da célula T, de modo que esses antígenos são chamados **T-dependentes**. O termo *linfócitos T auxiliares* surgiu a partir da observação de que as células T estimulam (ou ajudam) os linfócitos B a produzirem anticorpos. Nas respostas T-dependentes, algumas células B ativadas começam a produzir anticorpos distintos da IgM, num processo denominado **troca (*switching*) de isotipo (classe) de cadeia pesada**. Conforme a resposta se desenvolve, células B ativadas produzem anticorpos que se ligam aos antígenos com afinidade crescente, e essas células B vão progressivamente dominando a resposta; esse processo é chamado **maturação de afinidade**. Além da troca de isotipo e da maturação de afinidade, as células T auxiliares estimulam a produção de plasmócitos de vida longa e a geração de células B de memória (Fig. 12.1). Antígenos multivalentes com determinantes repetitivos, como polissacarídeos, podem ativar as células B sem ajuda da

célula T. Esses antígenos são chamados **T-independentes**. As respostas T-independentes são rápidas, porém relativamente simples, consistindo principalmente em anticorpos IgM de baixa afinidade, enquanto as respostas T-dependentes são mais lentas, porém mais potentes e "sofisticadas".

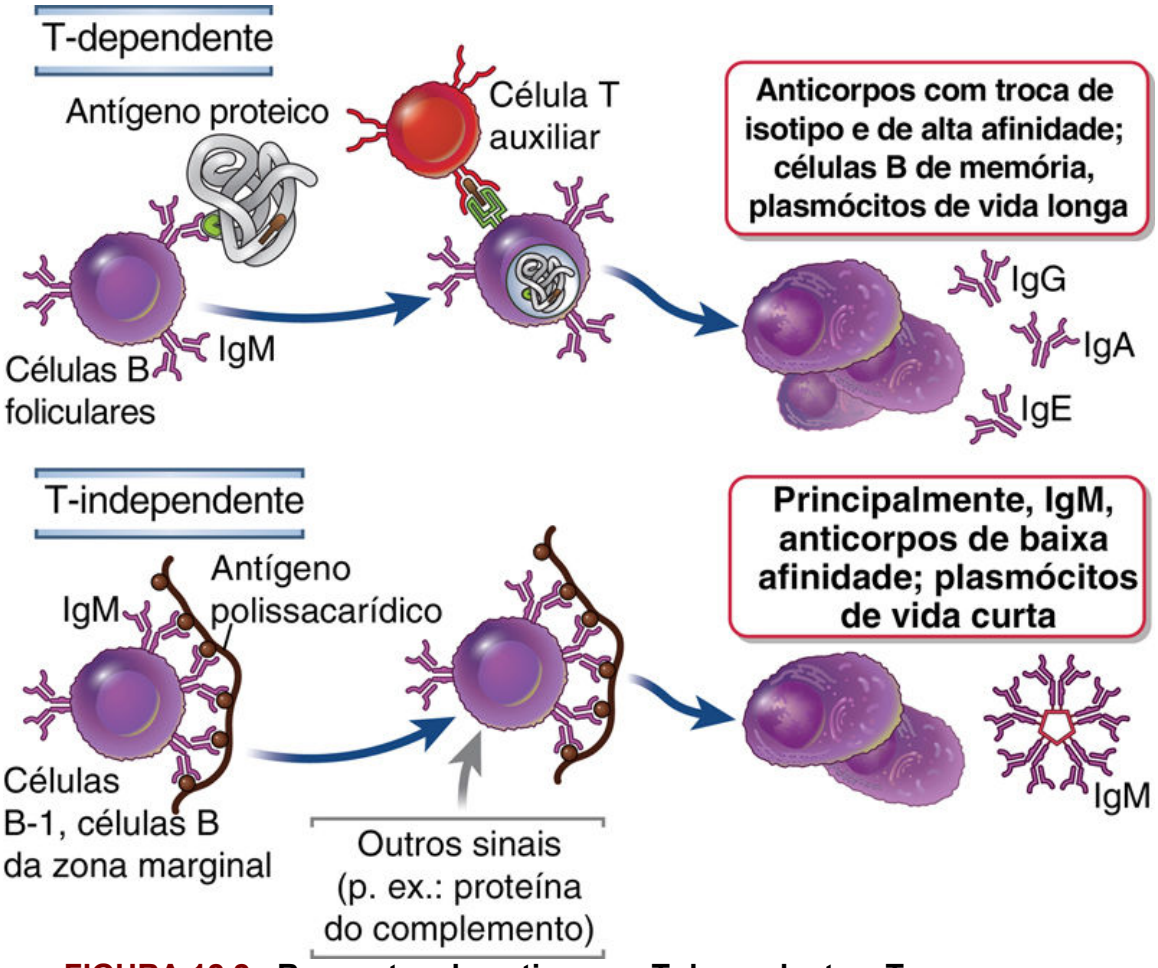
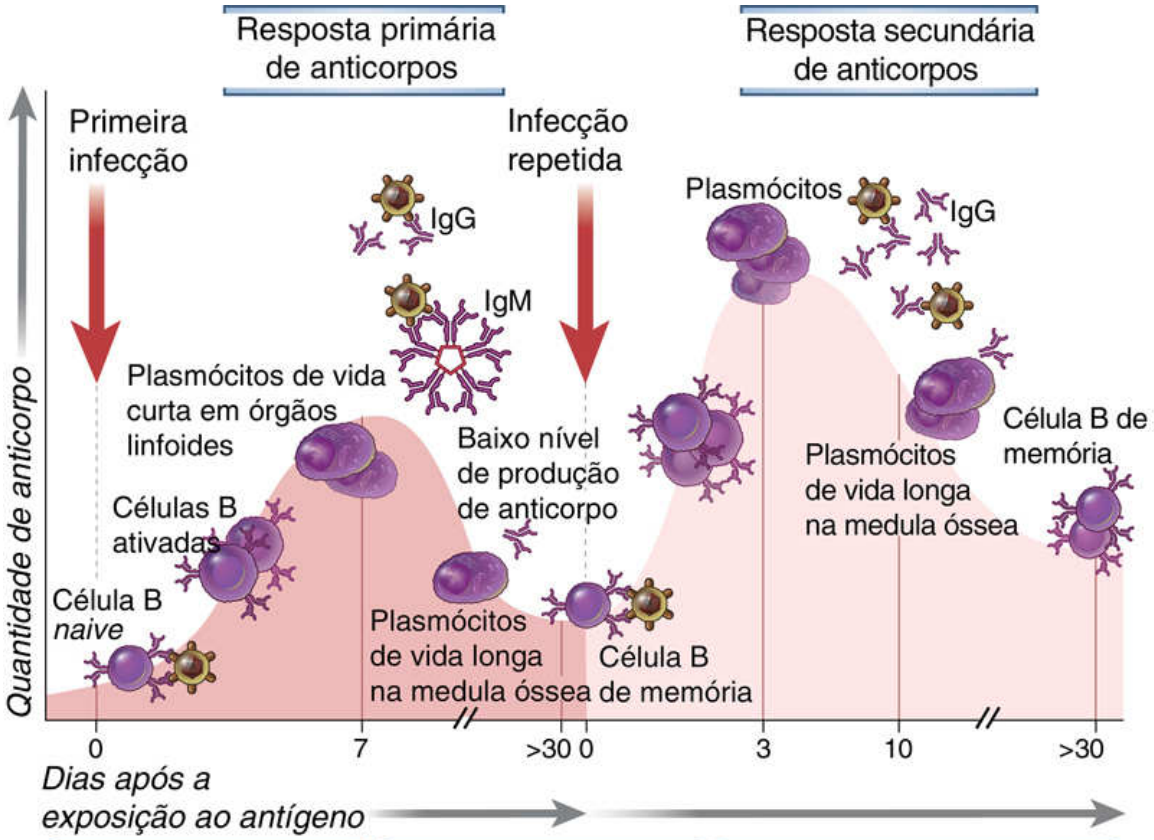


FIGURA 12.2 Respostas de anticorpos T-dependente e T-independente.
As respostas de anticorpos T-dependentes a antígenos proteicos envolvem principalmente células B foliculares. As respostas T-independentes a antígenos multivalentes são mediadas principalmente por células B da zona marginal e células B-1 em sítios de mucosa.

As respostas primárias e secundárias de anticorpos a antígenos proteicos diferem qualitativa e quantitativamente (Fig. 12.3). As respostas primárias resultam da ativação de células B *naive* não previamente

estimuladas, enquanto as respostas secundárias são devidas à estimulação de clones expandidos de células B de memória. Portanto, a resposta secundária se desenvolve mais rápido do que a resposta primária, e quantidades maiores de anticorpos são produzidas na resposta secundária. Além disso, como as células de memória já passaram pela troca de isotipo e pela maturação de afinidade, há mais IgG e outros isotipos do que IgM, sendo que a afinidade do anticorpo é maior nas respostas secundárias.



Característica	Resposta primária	Resposta secundária
Magnitude	Menor	Maior
Isotipo de anticorpo	Geralmente IgM > IgG	Aumento relativo na IgG e, em determinadas situações, em IgA ou IgE
Afinidade do anticorpo	Afinidade em média menor, mais variável	Afinidade em média maior (maturação de afinidade)
Induzida por	Todos os imunógenos	Somente antígenos proteicos

FIGURA 12.3 Respostas imunes humorais primária e secundária.
Em uma resposta imune primária, as células B *naive* são estimuladas pelo antígeno, tornam-se ativadas e se diferenciam em células secretoras de anticorpo que produzem anticorpos específicos para o antígeno indutor. Uma resposta imune secundária é elicitada quando o mesmo antígeno estimula células B de memória, levando à produção de quantidades maiores de anticorpo específico do que aquilo que foi produzido na resposta primária. Note que as características das respostas de anticorpo secundárias resumidas na tabela são típicas de respostas de anticorpos T-dependentes a antígenos proteicos.

Subpopulações distintas de células B respondem de modo preferencial a diferentes tipos de antígenos (Fig. 12.2). As células B foliculares nos órgãos linfoides periféricos produzem respostas de anticorpos a antígenos proteicos, e essas respostas de célula B exigem colaboração com células T auxiliares. As células B da zona marginal, no baço e em outros tecidos linfoides, bem como as células B-1 encontradas em tecidos de mucosa e no peritônio, reconhecem antígenos multivalentes, como polissacarídeos transportados pelo sangue, e montam primariamente respostas de anticorpos T-independentes. Essas preferências não são absolutas. Algumas células B de zona marginal participam nas respostas T-dependentes, enquanto algumas células B foliculares podem montar respostas T-independentes.

Com esta introdução, prosseguiremos para uma discussão sobre a ativação da célula B, começando com a interação entre o antígeno e as células B. Descreveremos então o papel das células T auxiliares nas respostas de célula B a antígenos proteicos, e os mecanismos de troca de isotipo e maturação de afinidade. Concluímos com uma discussão sobre as respostas de anticorpos T-independentes.

Reconhecimento Antigênico e Ativação Antígeno-induzida da Célula B

Para iniciar as respostas de anticorpos, os antígenos precisam ser capturados e transportados para as áreas de células B dos órgãos linfoides periféricos (secundários). Os antígenos, então, iniciam o processo de ativação das células B, frequentemente trabalhando em conjunto com outros sinais gerados durante as respostas imunes inatas induzidas por microrganismos ou pelos adjuvantes nas vacinas. Em seguida, descreveremos esses eventos iniciais na ativação da célula B.

Captura do Antígeno e Distribuição para as Células B

O antígeno pode ser distribuído às células B* naive *em órgãos linfoides através de múltiplas vias (Fig. 12.4). Os antígenos deflagradores de respostas de anticorpo podem variar quanto ao tamanho e a composição (podem ser pequenos, solúveis, grandes ou particulados), e também podem ser livres ou estar ligados a anticorpos. As principais vias de distribuição do antígeno podem variar para os diferentes tipos de antígenos.

- A maioria dos antígenos originados nos sítios teciduais são transportados para os linfonodos pelos vasos linfáticos aferentes que drenam para dentro do espaço sinusal subcapsular dos linfonodos. Os antígenos solúveis, em geral menores que 70 kDa, podem então alcançar a zona de célula B através dos condutos que se estendem por entre o seio subcapsular e os folículos subjacentes.
- Os macrófagos sinusais subcapsulares capturam microrganismos grandes e complexos antígeno-anticorpo, e os distribuem aos folículos.
- Muitos antígenos que entram no linfonodo pelos vasos linfáticos aferentes não são capturados e são grandes demais para entrarem nos condutos. Foi sugerido que esses antígenos podem ser capturados na região medular, por uma subpopulação de células dendríticas residentes, e transportados no interior dos folículos, onde podem ativar as células B. Essas células dendríticas não estão bem definidas e o modo como são instruídas a "viajarem" até o folículo é desconhecido.

- Os antígenos presentes em imunocomplexos podem se ligar a receptores de complemento (em particular ao receptor de complemento tipo 2 [CR2]) presentes nas células B da zona marginal, e essas células podem transferir os antígenos contidos nos imunocomplexos às células B foliculares. Os imunocomplexos também podem se ligar ao CR2 presente na superfície das células dendríticas foliculares, e os antígenos nesses complexos são então apresentados para as células B antígeno-específicas. Anticorpos naturais podem contribuir para a formação de imunocomplexos e a apresentação de alguns antígenos durante as respostas imunes primárias.
- Os antígenos polissacarídicos podem ser capturados por macrófagos na zona marginal dos folículos linfoides esplênicos e exibidos ou transferidos para as células B nesta área.

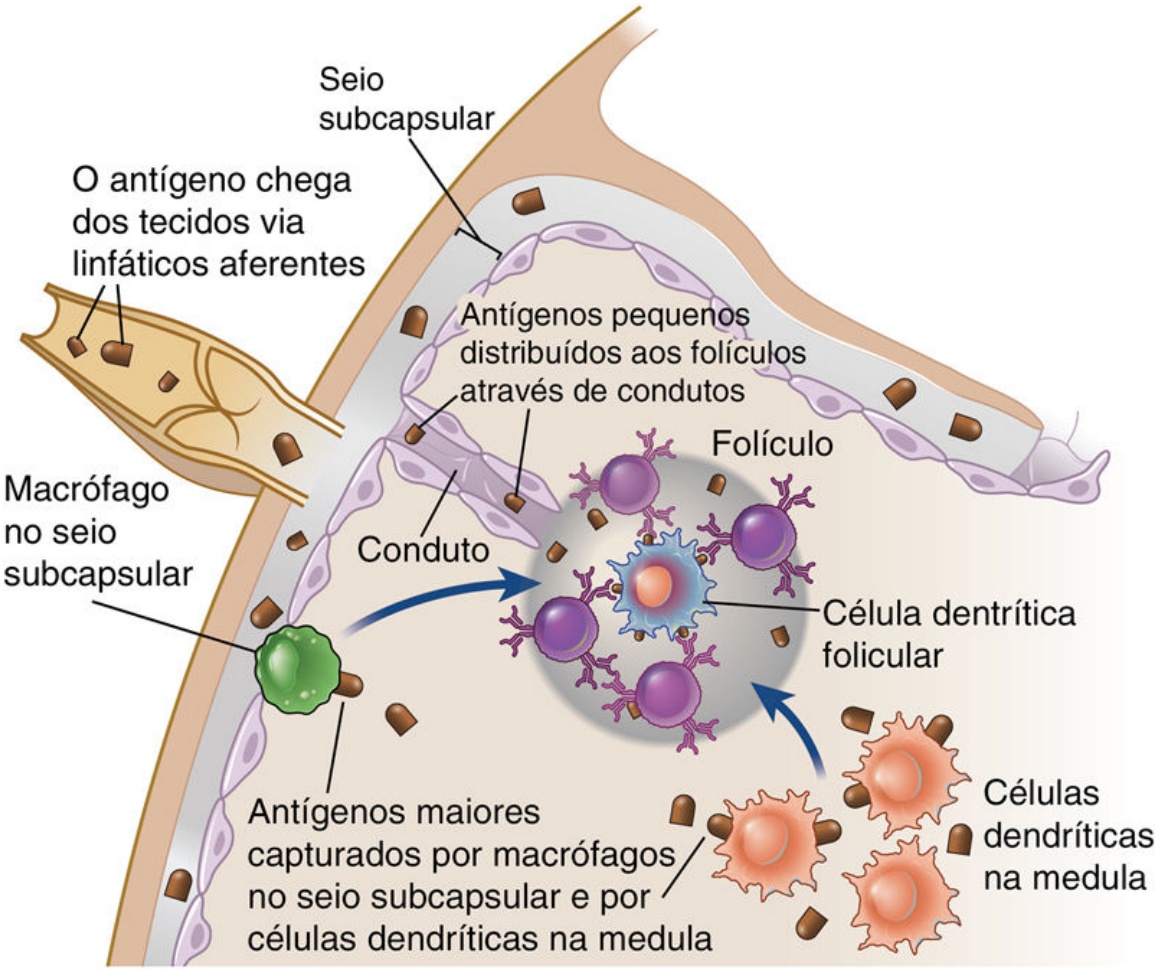


FIGURA 12.4 Vias de distribuição de antígeno para as células B foliculares.
Antígenos pequenos são distribuídos às células B nos folículos através dos linfáticos aferentes e via condutos, enquanto os antígenos maiores o são por macrófagos sinusais subcapsulares ou células dendríticas na medula.

Em todos esses casos, ***o antígeno apresentado às células B geralmente está em sua conformação intacta nativa, e não está processado pelas células apresentadoras de antígeno (APCs).*** Certamente, essa é uma das diferenças importantes entre as formas de antígenos reconhecidas por linfócitos B e T (Capítulo 6). Embora a apresentação do antígeno às células B pelos macrófagos sinusais subcapsulares, macrófagos presentes na zona marginal esplênica e células dendríticas medulares tenha sido descrita em modelos experimentais, o modo como essas células previnem a internalização e degradação dos antígenos proteicos que capturam ainda é desconhecido.

Ativação das Células B por Antígenos e Outros Sinais

O complexo receptor antigênico da célula B (BCR, do inglês,* B cell antigen receptor*) é composto por moléculas de Ig de membrana e proteínas Igα e Igβ associadas, exercendo dois papéis essenciais na ativação da célula B. Primeiro, a ligação do antígeno ao receptor envia sinais bioquímicos para as células B que iniciam o processo de ativação. Conforme discutido adiante, a sinalização é mais robusta com antígenos T-independentes multivalentes do que com antígenos proteicos T-dependentes. Os sinais bioquímicos antígeno-induzidos são iniciados pela fosforilação das tirosinas ITAM de Igα e Igβ mediada pelas quinases da família Src, seguida do recrutamento e ativação de Syk (Capítulo 7). Em segundo lugar, o receptor internaliza o antígeno ligado para dentro de vesículas endossomais e esse antígeno, se for proteico, é processado em peptídeos que podem ser apresentados na superfície da célula B para serem reconhecidos pelas células T auxiliares. Essa função de apresentação antigênica das células B será considerada adiante, no contexto da ativação T-dependente das células B.

Embora o reconhecimento do antígeno possa iniciar respostas de células B, esse processo geralmente é por si só inadequado para estimular a proliferação e diferenciação significativa da células B, até mesmo para antígenos T-independentes. Para a indução de respostas completas, outros estímulos cooperam com o engajamento do BCR, incluindo proteínas do complemento, receptores de reconhecimento de padrão e, no caso dos antígenos proteicos, células T auxiliares (discutidas adiante).

A ativação das células B é facilitada pelo correceptor CR2/CR1 presente nessas células, o qual reconhece fragmentos de complemento ligados de forma covalente ao antígeno ou que sejam parte de imunocomplexos contendo o antígeno (Fig. 12.5A). As células B foliculares e as células B da zona marginal expressam o receptor de complemento CR2 (também chamado CD21); os níveis de CR2 nas células B da zona marginal são significativamente maiores. A ativação do complemento ocorre tipicamente em resposta a microrganismos que ativam esse sistema na ausência de anticorpos pelas vias alternativa e da lectina, e na presença de anticorpos pela via clássica (Capítulos 4 e 13). Em todas essas situações, são gerados fragmentos do complemento que se ligam aos microrganismos. Um desses fragmentos, chamado C3d, é reconhecido pelo CR2/CD21, e isso intensifica a força da sinalização do BCR, atuando assim como um correceptor para as células B (Capítulo 7). Alguns

polissacarídeos não microbianos também ativam o complemento pela via alternativa ou pela via da lectina, e isso é um dos motivos pelos quais esses antígenos conseguem induzir respostas de anticorpo sem ajuda da célula T.

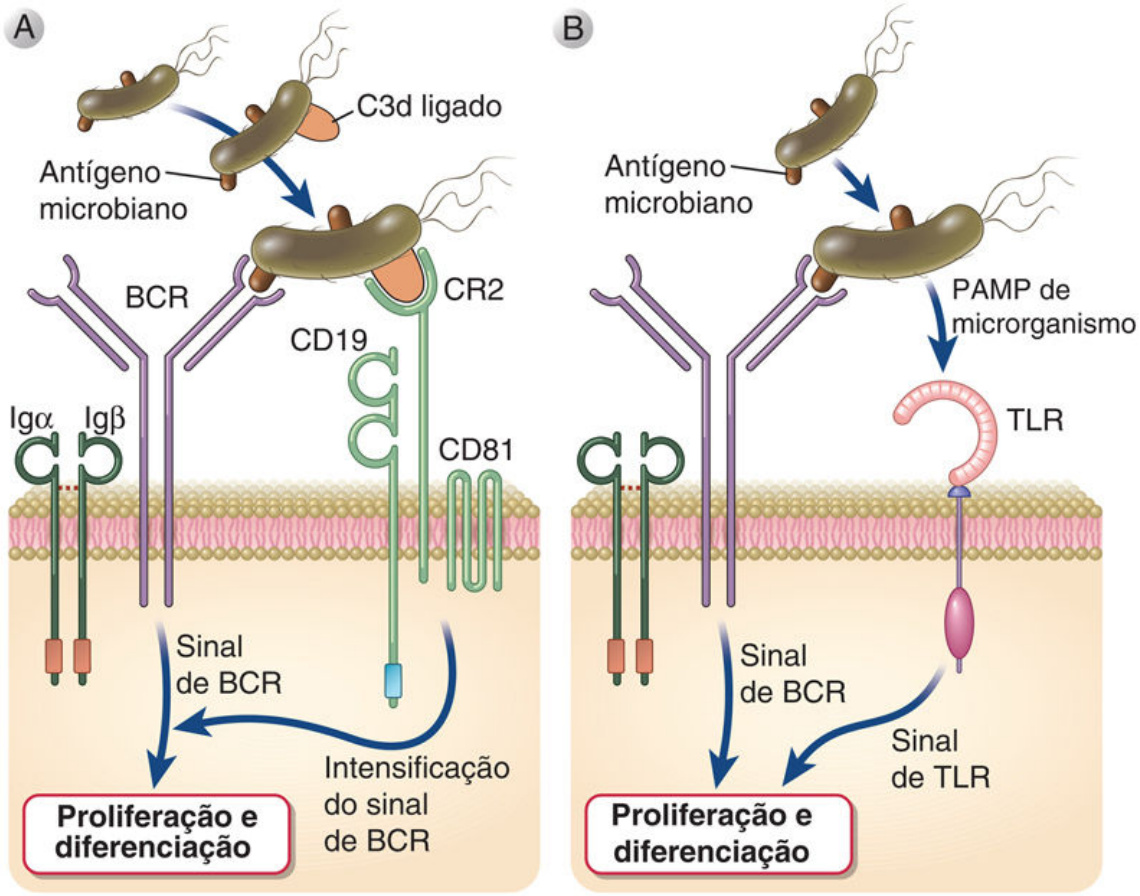


FIGURA 12.5 Papel do receptor do complemento tipo 2 e receptores do tipo *Toll* na ativação da célula B.
Nas respostas imunes a microrganismos, ativação das células B via BCR pode ser intensificada por um antígeno coberto com complemento que possa se ligar tanto ao BCR como ao receptor de complemento 2 (CR2) **(A),** e também por ativação simultânea de receptores do tipo *Toll* (TLRs) nas células B, por moléculas (padrões moleculares associados a patógenos [PAMPs, do inglês, *pathogen-associated molecular patterns*]) derivados do microrganismo **(B)**.

Os produtos microbianos engajam receptores do tipo* Toll *presentes nas células B, e isso também intensifica a ativação da célula B (Fig. 12.5B). As células B humanas expressam vários TLRs (do inglês, *Toll-like receptors*), incluindo o TLR5 que reconhece flagelina bacteriana; o TLR7 endossomal,

que reconhece RNA de fita única; e o TLR9, que é específico para o DNA rico em CpG não metilado nos endossomos (Capítulo 4). As células B murinas (e não as células B humanas) também expressam o TLR4 na superfície celular, o qual reconhece LPS. Esses receptores de reconhecimento de padrão fornecem sinais que intensificam ou cooperam com aqueles emitidos pelo complexo receptor da célula B durante a ativação dessas células. Em adição, a ativação de células mieloides através dos receptores de reconhecimento de padrão pode promover indiretamente a ativação da célula B, de dois modos. Células dendríticas ativadas via TLRs contribuem de maneira significativa para a ativação da célula T auxiliar, e as células T auxiliares estimulam as células B em resposta aos antígenos proteicos. As células mieloides ativadas por TLRs podem secretar APRIL (do inglês, *A proliferation-inducing ligand*) e BAFF (do inglês, *B cell-activating fator*), citocinas capazes de promover respostas T-independentes das células B.

A interação de diferentes tipos de antígenos (proteínas ou estruturas multivalentes) com o BCR inicia a proliferação e diferenciação da célula B, de modos distintos. A importância da sinalização pelo complexo BCR para as respostas celulares subsequentes varia com a natureza do antígeno. A maioria dos antígenos T-independentes, como os polissacarídeos, contêm múltiplos epítopos idênticos em cada molécula. Esses antígenos multivalentes podem efetivamente fazer ligação cruzada com muitos receptores antigênicos da célula B e iniciar respostas, ainda que não sejam reconhecidos por linfócitos T auxiliares. Em contraste, muitos antígenos proteicos globulares de ocorrência natural têm apenas uma cópia de cada epítopo por molécula. Assim, esses antígenos proteicos, em sua forma funcionalmente monovalente, não podem simultaneamente se ligar e fazer ligação cruzada com múltiplas moléculas de Ig, e sua capacidade de ativar o BCR é limitada. Esses antígenos tipicamente não induzem sinais que podem dirigir a proliferação e diferenciação da célula B. Esses sinais fracos podem ser suficientes para manter as células B vivas, induzir alterações na expressão de receptor de quimiocina e promover endocitose do antígeno (Tabela 12.1). Alguns antígenos proteicos podem ser exibidos na forma de arranjos multivalentes nas superfícies de microrganismos ou células, ou podem ser multivalentes por estarem em agregados.

Tabela 12.1

Efeitos do Engajamento do Receptor Antigênico nas Células B

Alteração Fenotípica	Consequência Funcional
Expressão aumentada de CCR7	Migração rumo à zona de células T
Expressão aumentada de coestimuladores B7	Intensificação da capacidade de ativar células T auxiliares
Expressão aumentada de receptores para citocinas de célula T	Responsividade aumentada aos sinais oriundos das células T auxiliares
Expressão aumentada de proteínas antiapoptóticas	Aumento da sobrevida das células B

Essas alterações podem ser induzidas pela ligação de antígenos proteicos ao receptor da célula B (BCR) e preparam as células B para responder à ajuda da célula T. Os antígenos proteicos também são internalizados, processados e apresentados para as células T auxiliares. Com antígenos T-independentes multivalentes, além das alterações listadas acima, as células B proliferam e se diferenciam em plasmócitos secretores de anticorpo IgM.

Depois que as células B específicas reconhecem os antígenos, as etapas subsequentes nas respostas imunes humorais diferem bastante nas respostas T-dependente e T-independente. A seguir, descreveremos a ativação das células B por antígenos proteicos e células T auxiliares.

Respostas de Anticorpos Dependentes de Célula T Auxiliar a Antígenos Proteicos

A função auxiliar dos linfócitos T foi descoberta em experimentos realizados no final dos anos 1960, os quais demonstraram que as respostas de anticorpos requeriam cooperação entre células B e T. Esses estudos experimentais clássicos estavam entre os primeiros a demonstrar a importância das interações entre duas populações celulares distintas no sistema imune. Posteriormente, foi estabelecido que a maioria das células T auxiliares são linfócitos $CD4^+CD8^-$ que reconhecem antígenos peptídicos apresentados por moléculas de MHC de classe II. Uma das importantes realizações da Imunologia foi a elucidação dos mecanismos de interação entre células T-B, e as ações das células T auxiliares nas respostas de anticorpos.

Sequência de Eventos durante as Respostas de Anticorpos Dependentes de Célula T

Os antígenos proteicos são reconhecidos de modo independente por linfócitos B e T específicos nos órgãos linfoides periféricos, e esses dois tipos de células ativadas interagem entre si para iniciar as respostas imunes humorais (Fig. 12.6). As células T $CD4^+$ *naive* são ativadas nas zonas de célula T, pelo antígeno (na forma de peptídeos processados associados ao MHC) apresentado por células dendríticas. As células B *naive* presentes nos folículos são ativadas pelo mesmo antígeno (em sua conformação nativa) que lá é transportado. As células T auxiliares ativadas e as células B ativadas migram na direção uma da outra e interagem junto às bordas dos folículos, onde se desenvolve a resposta inicial de anticorpos. Uma parte das células T e B ativadas migram de volta para dentro dos folículos formando os centros germinativos, onde são induzidas respostas de anticorpos mais especializadas. Em seguida, descreveremos detalhadamente cada uma dessas etapas.

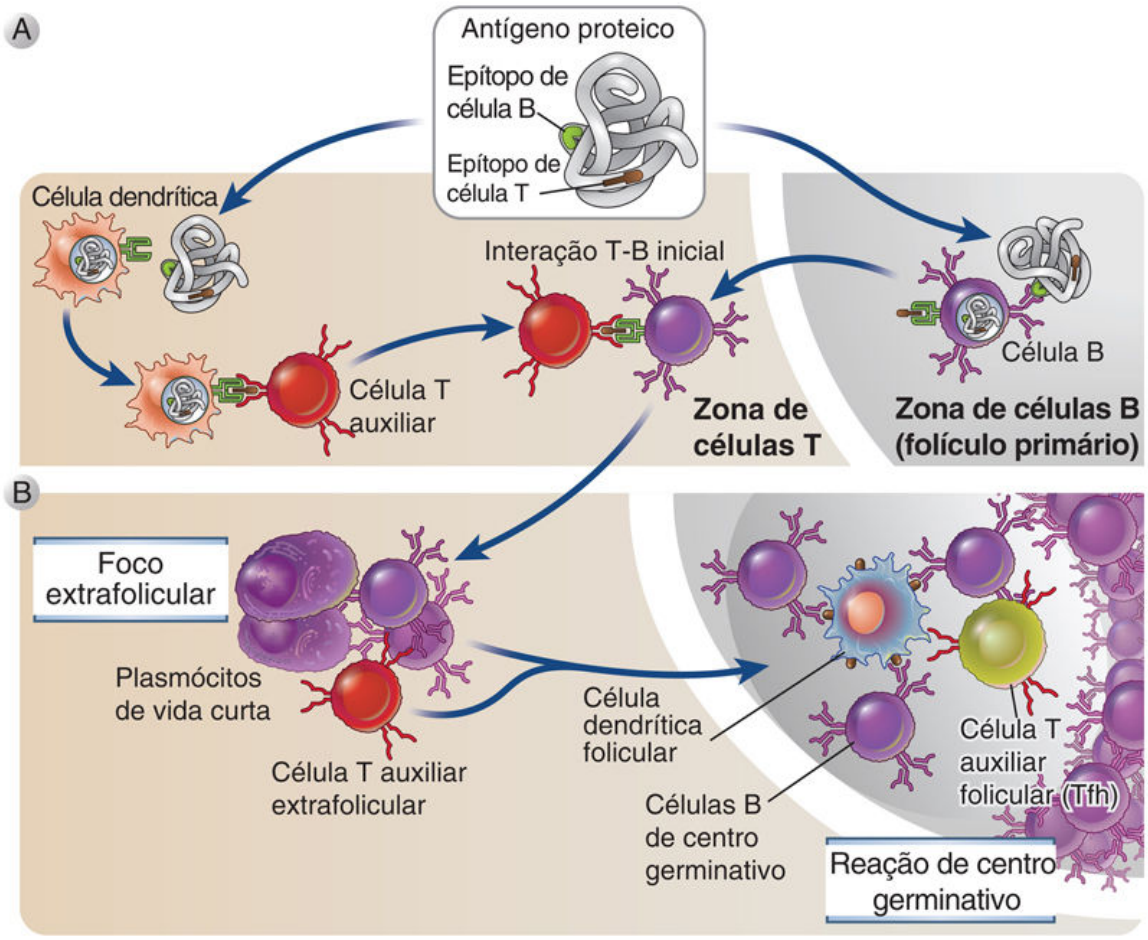


FIGURA 12.6 Sequência de eventos nas respostas imunes humorais a antígenos proteicos dependentes de célula T. **A,** As respostas imunes são iniciadas pelo reconhecimento de antígenos por células B e células T $CD4^+$. Os linfócitos ativados migram na direção uns dos outros e interagem na interface das zonas de células T e B. **B,** A proliferação e diferenciação inicial T-dependente da célula B resulta na formação de um foco extrafolicular, no qual as células B proliferam, podem sofrer troca de isotipo e se diferenciam em plasmócitos (principalmente de vida curta). Algumas células T ativadas no foco extracelular se desenvolvem em células T auxiliares foliculares e migram de volta para dentro dos folículos, junto com algumas células B ativadas, para formar um centro germinativo. Os últimos eventos nas respostas de célula B ocorrem em centros germinativos e incluem mutação somática e a seleção de células de alta afinidade (maturação de afinidade), troca adicional de isotipo, geração de célula B de memória e geração de plasmócitos de vida longa, descrito nas últimas figuras.

Ativação Inicial e Migração de Células B e T Auxiliares

A ativação contemporânea de células B e T específicas por um antígeno proteico induz alterações que as aproximam, de modo a aumentar a probabilidade de as células B e T antígeno-específicas se colocalizarem e interagirem entre si (Fig. 12.7). A frequência de células B ou de células T *naive* específicas para um dado epítopo de um antígeno pode ser da ordem de 1 em 10^5 a 1 em 10^6 linfócitos, e as células B e T específicas têm que se encontrar e interagir fisicamente para gerarem respostas fortes de anticorpos. Isso se dá, em parte, pelo movimento regulado das células em seguida ao reconhecimento antigênico. As células T auxiliares modulam negativamente o receptor de quimiocina CCR7 e aumentam a expressão de CXCR5. Como resultado, saem da zona de células T e migram rumo ao folículo, em resposta à CXCL13 secretada pelas células dendríticas foliculares e por outras células presentes no folículo. As células B respondem aos disparos antígeno-mediados do BCR, diminuindo a expressão na superfície celular do receptor de quimiocina CXCR5 e aumentando a expressão de CCR7. Como resultado, as células B ativadas migram em direção à zona de células T, direcionadas por um gradiente de CCL19 e CCL21, os ligantes de CCR7. O resultado líquido dessas alterações é que os linfócitos T e B são atraídos em direção um ao outro.

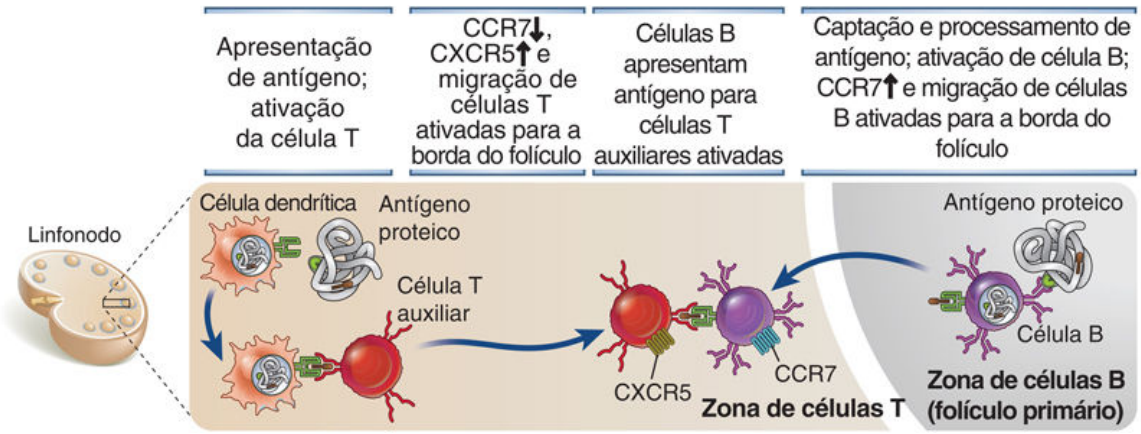


FIGURA 12.7 Migração de células B e células T auxiliares, e interação T-B.
As células B e as células T auxiliares antígeno-ativadas se movem na direção uma da outra em resposta aos sinais de quimiocina, e fazem contato nas adjacências dos folículos primários.

Os antígenos proteicos são internalizados pela célula B e apresentados em uma forma que pode ser reconhecida pelas células T auxiliares. Isso representa a etapa seguinte no processo de ativação T-dependente das células B.

Apresentação do Antígeno por Células B e o Efeito Hapteno-Carreador

Os antígenos proteicos reconhecidos por BCRs específicos são endocitados e processados para gerarem peptídeos que se ligam a moléculas de MHC de classe II, e são apresentados às células T CD4⁺ (Fig. 12.8). Essa via do MHC de classe II de apresentação de antígeno foi descrita em detalhes no Capítulo 6. Os peptídeos apresentados pela célula B à célula T auxiliar são os mesmos peptídeos que inicialmente ativaram a célula T $CD4^+$ *naive* ao serem apresentados pelas células dendríticas na zona de célula T. Como o BCR reconhece com alta afinidade um epítopo da proteína nativa, células B específicas se ligam a esse antígeno de forma muito mais eficiente (i. e., em concentrações bem menores), em comparação as outras células B inespecíficas para o antígeno. Portanto, as células B antígeno-específicas também são muito mais eficientes na apresentação de peptídeos derivados do antígeno, do que as outras células B que não expressam receptores de membrana para esse antígeno. É por isso que as células B específicas para um antígeno são as mais capazes para interagir com as células T auxiliares específicas para esse antígeno e receber sinais auxiliares, enquanto as células B com outros BCRs permanecem em estado quiescente.

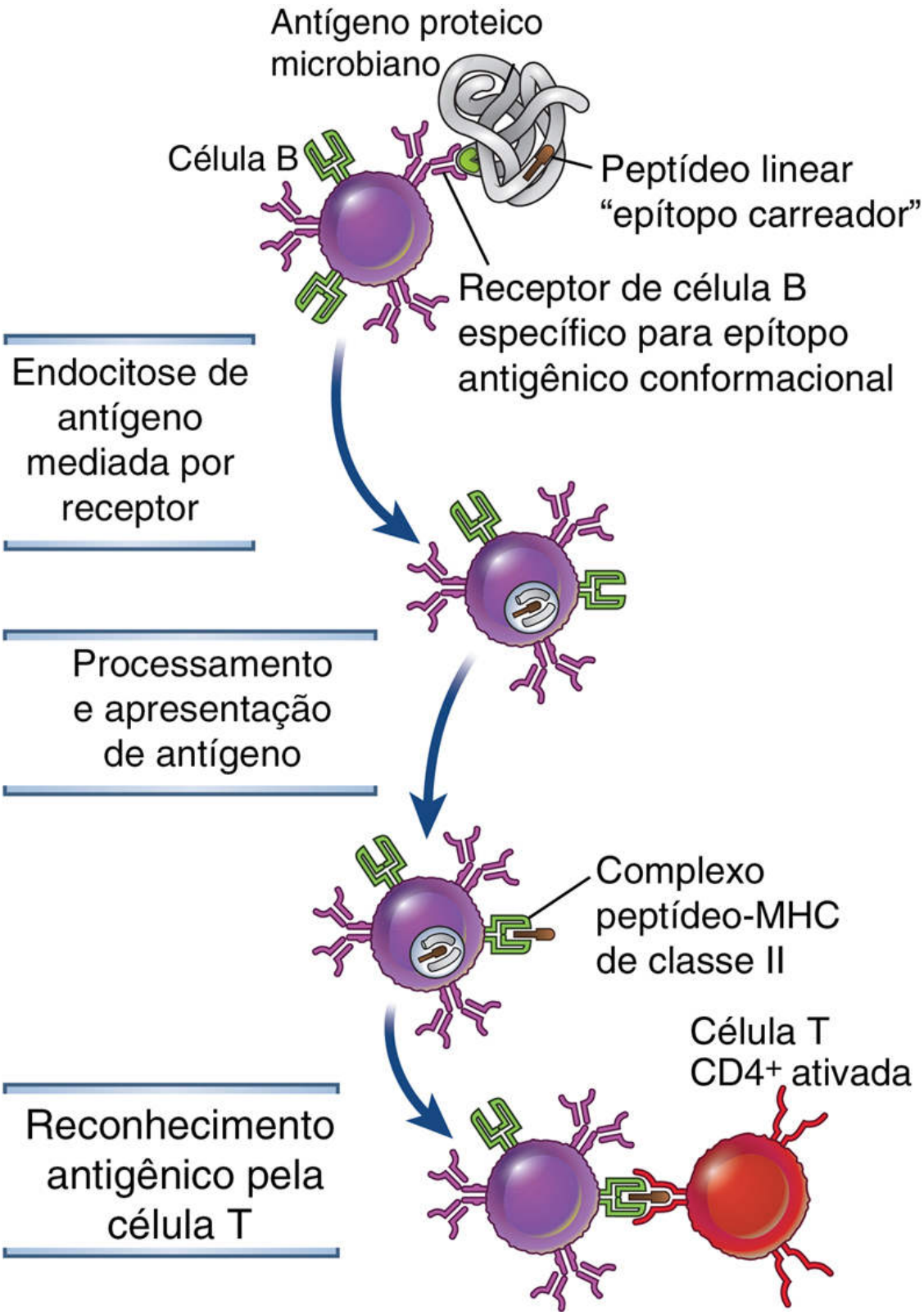


FIGURA 12.8 Apresentação de antígeno nas células B para células T auxiliares.
Os antígenos proteicos reconhecidos pela Ig de membrana são

endocitados e processados, e fragmentos peptídicos são apresentados associados a moléculas de MHC de classe II. As células T auxiliares reconhecem os complexos MHC-peptídeo nas células B e, então, estimulam respostas de célula B. Nas respostas a conjugados hapteno-carreador, o hapteno (epítopo da célula B) é reconhecido por uma célula B específica e endocitado, a proteína carreadora é processada na célula B, e os peptídeos do carreador (os epítopos de célula T) são apresentados para a célula T auxiliar.

Em uma resposta de célula B dependente de célula T a um antígeno proteico, pelo menos dois epítopos diferentes da proteína participam no processo: um epítopo de superfície presente na proteína nativa é reconhecido com alta especificidade por uma célula B, e um epítopo peptídico linear, que pode estar em qualquer parte da proteína intacta, é subsequentemente liberado por proteólise, liga-se a moléculas de MHC de classe II e é reconhecido por células T auxiliares. Os anticorpos eventualmente secretados em geral são específicos para os determinantes conformacionais do antígeno nativo, porque a Ig de membrana presente nas células B é capaz de ligar epítopos conformacionais de proteínas, e essa mesma Ig é secretada por plasmócitos derivados daquelas células B. Essa característica do reconhecimento antigênico pela célula B determina a especificidade fina da resposta de anticorpos e independe do fato de que as células T auxiliares reconhecem somente epítopos lineares de peptídeos processados. De fato, um único linfócito B específico para um epítopo nativo pode se ligar e endocitar uma proteína e apresentar múltiplos peptídeos diferentes complexados com moléculas do MHC de classe II a diferentes células T auxiliares, porém a resposta de anticorpos resultante continua sendo específica para a proteína nativa.

Os princípios destacados aqui para a colaboração entre as células T e B ajudam a explicar um fenômeno conhecido como **efeito hapteno-carreador**. Os haptenos, como o dinitrofenol, são compostos químicos pequenos que podem ser reconhecidos por anticorpos específicos, mas não são imunogênicos por si sós. Entretanto, se os haptenos forem acoplados a proteínas, que servem de carreadores, os conjugados conseguem induzir respostas de anticorpo contra os haptenos. A análise das respostas de anticorpo contra conjugados hapteno-transportador forneceu uma das primeiras demonstrações de como a apresentação de antígeno pelos linfócitos B contribui para o desenvolvimento de respostas imunes humorais. Existem três características importantes das respostas de anticorpo anti-hapteno dirigidas aos conjugados hapteno-proteína. Primeiro, esse tipo de resposta requer células B hapteno-específicas e

células T auxiliares proteína (carreador)-específicas. Em segundo lugar, para estimular uma resposta, as porções hapteno e carreador têm de estar fisicamente ligadas e não podem ser administradas de modo separado. Em terceiro lugar, a interação é restrita ao MHC de classe II, ou seja, as células T auxiliares cooperam somente com os linfócitos B que expressam moléculas de MHC de classe II idênticas àquelas envolvidas na ativação inicial das células T *naive* pelas células dendríticas. Todas essas características das respostas de anticorpo contra conjugados hapteno-proteína podem ser explicadas pelas funções de apresentação de antígeno dos linfócitos B. As células B hapteno-específicas se ligam ao antígeno através do determinante hapteno, endocitam o conjugado hapteno-carreador, digerem o componente proteico e apresentam peptídeos derivados da proteína carreadora aos linfócitos T auxiliares carreador-específicos (Fig. 12.8). Desse modo, os dois linfócitos cooperantes reconhecem diferentes epítopos do mesmo antígeno. O hapteno é responsável pela internalização eficiente da proteína transportadora para dentro da célula B, o que explica porque hapteno e carreador devem estar fisicamente ligados. O requerimento de apresentação do antígeno associado ao MHC para ativação da célula T é responsável pela restrição do MHC das interações célula T-célula B.

As características das respostas humorais elucidadas para os conjugados hapteno-carreador se aplicam a todos os antígenos proteicos em que um determinante intrínseco, em geral um determinante conformacional nativo, é reconhecido por células B (e, portanto, é análogo ao hapteno) e outro determinante, na forma de um peptídeo linear associado ao MHC de classe II, é reconhecido por células T auxiliares (e é análogo ao carreador que constitui a fonte do peptídeo). O efeito hapteno-carreador é a base do desenvolvimento de vacinas conjugadas contra bactérias encapsuladas; essas vacinas contêm epítopos carboidratos reconhecidos por células B e que estão ligados a proteínas reconhecidas por células T (discutido adiante, neste capítulo).

Papel da Interação CD40L:CD40 na Ativação T-Dependente das Células B

Sob ativação pelo antígeno, as células T auxiliares expressam CD40-ligante (CD40L) que engaja seu receptor, o CD40, em células B antígeno-estimuladas e induzem proliferação e diferenciação das células B, inicialmente em focos extrafoliculares e, depois, em centros germinativos (Fig. 12.9). O CD40 é membro da superfamília do receptor de TNF

(Capítulo 10). Seu ligante, o CD40L (CD154), é uma proteína de membrana trimérica homóloga ao TNF. O CD40 é expresso de modo constitutivo na superfície das células T auxiliares recentemente ativadas pelo antígeno e por coestimuladores. Quando essas células T auxiliares ativadas interagem fisicamente com células B apresentadoras de antígeno, o CD40L se liga ao CD40 na superfície da célula B. Isso resulta em alteração conformacional dos trímeros de CD40 pré-formados que induzem a associação de proteínas citosólicas chamadas TRAFs (do inglês, *TNF receptor-associated factors*) com o domínio citoplasmático de CD40. Os TRAFs recrutados para o CD40 iniciam cascatas enzimáticas que levam à ativação e translocação nuclear de fatores de transcrição, incluindo NF-κB e AP-1, os quais coletivamente estimulam a proliferação da célula B, bem como síntese e secreção aumentada de Ig. Vias de sinalização similares são ativadas pelos receptores de TNF (Capítulo 7). Os sinais induzidos por CD40 também são decisivos para as reações de centro germinativo subsequentes, conforme discutiremos adiante. Além disso, a ativação de células dendríticas e macrófagos mediada pela célula T envolve a interação de CD40L nas células T auxiliares ativadas com o CD40 nas células dendríticas e macrófagos (Capítulos 6 e 10).

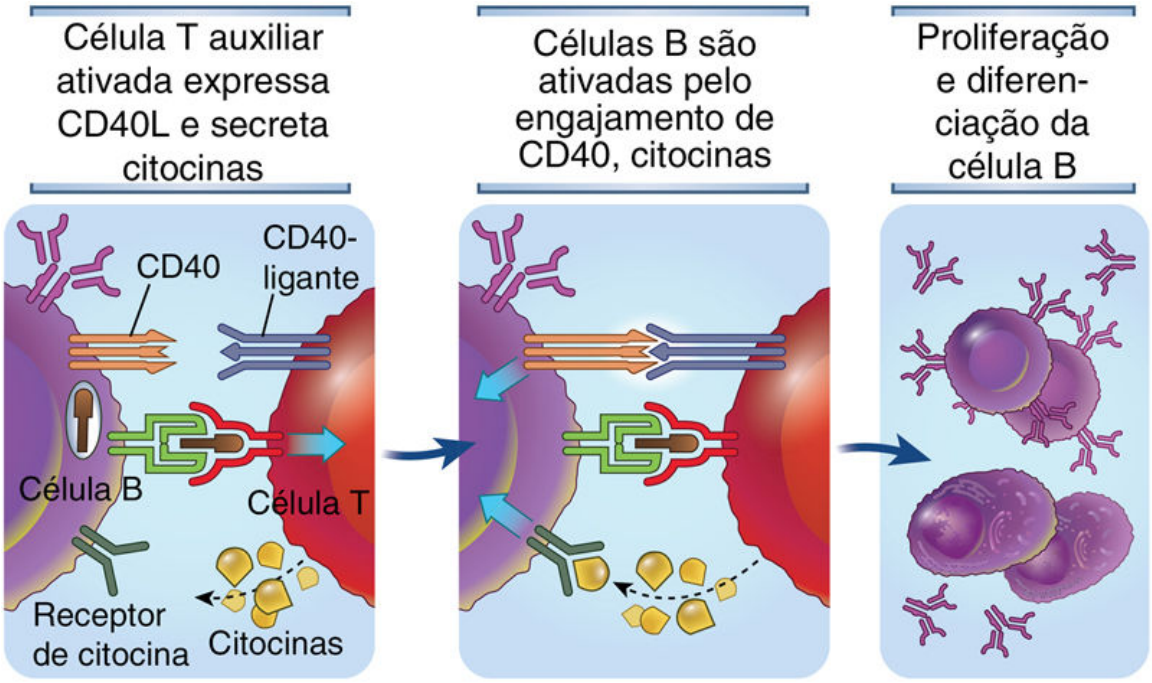


FIGURA 12.9 Mecanismos de ativação da célula B mediada pela célula T auxiliar.
As células T auxiliares ativadas pelo reconhecimento de antígenos apresentados pelas células B expressam CD40L, que se liga ao CD40 nas células B e estimula a proliferação e diferenciação da célula B. As citocinas produzidas pelas células T auxiliares também contribuem para as respostas da célula B.

As mutações no gene *CD40L* resultam em uma doença chamada **síndrome de hiper-IgM ligada ao X**. Essa síndrome é caracterizada por defeitos na produção de anticorpos, particularmente na troca de isotipos e na maturação de afinidade, bem como em imunidade celular deficiente (Capítulo 21). Anormalidades similares são vistas em camundongos *knockout* dos genes *CD40* ou *CD40L*. Curiosamente, um vírus de DNA chamado vírus Epstein-Barr (EBV) infecta células B humanas e induz sua proliferação. Isso pode levar à imortalização das células e ao desenvolvimento de linfomas. A cauda citoplasmática de uma proteína do EBV, a LMP1 (do inglês, *latent membrane protein 1*), associa-se às mesmas moléculas de TRAF que o domínio citoplasmático de CD40, e isso parece deflagrar a proliferação das células B. Assim, a LMP1 do EBV é funcionalmente homóloga a uma molécula sinal fisiológica da célula B, e o EBV aparentemente cooptou uma via normal de ativação do linfócito B para seu próprio benefício, a qual consiste em promover sobrevida e proliferação das células-alvo de infecção viral.

Além do CD40L presente nas células T auxiliares ativadoras de células B, as células T auxiliares também secretam citocinas que contribuem para as respostas de célula B. As citocinas derivadas de célula T são essenciais para as reações de centro germinativo, descritas posteriormente. Várias citocinas também foram implicadas nas etapas iniciais da proliferação e diferenciação da célula B, mas não está claro se alguma delas de fato é essencial a essas respostas.

Após a interação inicial das células B com as células T auxiliares na interface entre o folículo e a zona de célula T, a ativação subsequente das células B pelas células T auxiliares pode ocorrer em dois locais distintos — um fora dos folículos, em um foco extrafolicular, e o outro nos centros germinativos dos folículos. A natureza da resposta de célula B difere nestes locais (Tabela 12.2).

Tabela 12.2

Respostas de Célula B Extrafoliculares e de Centro Germinativo

Característica	Resposta Extrafolicular	Resposta de Centro Germinativo
Localização	Cordões medulares de linfonodos e junções entre a zona de célula T e a polpa vermelha do baço	Centros germinativos de folículos secundários
Sinais de CD40	Requeridos	Requeridos
Ajuda de célula T especializada	Células T auxiliares extrafoliculares	Células Tfh no centro germinativo
Expressão de AID	Sim	Sim
Troca de isotipo	Sim	Sim, extensivo
Hipermutação somática	Baixa taxa	Alta taxa
Maturação de afinidade de anticorpo	Baixa	Alta
Células B terminalmente diferenciadas	Plasmócitos de vida curta (expectativa de vida de ~3 dias)	Plasmócitos de vida longa que migram para a medula óssea, e células de memória
Fatores de transcrição ativados em células B	Blimp-1	Bcl-6

AID, Activation-induced cytidine deaminase; Bcl-6, *B cell lymphoma 6;* Blimp-1, *B lymphocyte-induced maturation protein 1;* Tfh, célula T auxiliar folicular.

Dados de Vinuesa CG, Sanz I, Cook MC: Dysregulation of germinal centres in autoimmune disease, Nature Reviews. Immunology 9:845–857, 2009.

Ativação de Célula B Extrafolicular

A ativação da célula B no foco extrafolicular fornece uma resposta de anticorpos inicial aos antígenos proteicos e estabelece a subsequente reação de centro germinativo. Os focos extrafoliculares de ativação T-dependente das células B geram anticorpos de baixa afinidade que podem circular e limitar a disseminação de uma infecção. Cada um desses focos pode produzir 100-200 plasmócitos secretores de anticorpo. No baço, os focos extrafoliculares se desenvolvem nas porções externas da bainha

linfoide periarteriolar rica em células T (PALS, do inglês, *periarteriolar lymphoid sheath*) ou entre a zona de célula T e a polpa vermelha, e essas coleções de células também são chamadas focos PALS. Similarmente, focos T-dependentes são observados nos cordões medulares de linfonodos.

As células B ativadas por células T auxiliares por meio do CD40L nos focos extrafoliculares sofrem certo grau de troca de isotipo. As células secretoras de anticorpo geradas nos focos extrafoliculares, incluindo os plasmablastos e plasmócitos teciduais, são principalmente de vida curta e não adquirem a capacidade de migrar para sítios distantes, como a medula óssea. A pequena quantidade de anticorpos produzidos nesses focos pode contribuir para a formação de imunocomplexos (contendo antígeno, anticorpo e, talvez, complemento) que são aprisionados pelas células dendríticas foliculares nos folículos linfoides. As células dendríticas foliculares, então, liberam quimiocinas, talvez em resposta aos imunocomplexos, que atraem algumas (frequentemente apenas uma ou duas) células B ativadas do foco extrafolicular para dentro do folículo, para iniciar a reação de centro germinativo. A resposta extrafolicular também ajuda a gerar células T auxiliares foliculares (Tfh, do inglês, *T follicular helper*) que migram para o interior do folículo e são requeridas para a formação do centro germinativo.

A Reação de Centro Germinativo

Os eventos característicos das respostas de anticorpos dependentes de célula T auxiliar, incluindo a maturação de afinidade, troca de isotipo e geração de plasmócitos de vida longa e de células B de memória, ocorrem primariamente em estruturas organizadas chamadas centros germinativos, as quais são criadas junto aos folículos linfoides durante as respostas imunes T-dependentes. O complexo processo de diversificação genética de células B ativadas e a sobrevida das mais adaptadas que ocorrem nesses sítios são denominados reação de centro germinativo.

Os centros germinativos se desenvolvem em cerca de 4-7 dias após a iniciação de uma resposta T-dependente de células B. Nesse momento, algumas células B ativadas nos focos extrafoliculares migram de volta para dentro do folículo e começam a proliferar rapidamente, formando uma região distinta do folículo (Fig. 12.10). A essa região os morfologistas denominaram *centro germinativo*, devido à crença de que novas células eram geradas (“germinadas”) nesse local, vigente muito tempo antes de sua importância funcional ter sido compreendida. Cada centro germinativo totalmente formado contém células derivadas de um único ou

de alguns clones de células B antígeno-específicos. Junto ao centro germinativo, há uma zona escura densamente concentrada contendo células B em processo de rápida proliferação, as quais estão passando por um processo de mutação descrito adiante. O tempo de duplicação dessas células B em proliferação no centro germinativo é estimado em 6-12 horas, de modo que um único linfócito pode originar uma progênie de até 5.000 células em 5 dias. A progênie das células B em proliferação no centro germinativo passa pelos processos de diferenciação e seleção na zona clara, descritos adiante. As células B do centro germinativo podem ser identificadas por sua expressão de um repressor transcricional conhecido como Bcl-6 (do inglês, *B cell lymphoma gene 6*), cujo papel é descrito adiante, ao considerarmos a regulação transcricional do destino da célula B. No passado, as células B na zona escura e na zona clara eram chamadas centroblastos e centrócitos, respectivamente; contudo esses termos agora são usados com menos frequência, porque as células em processo de clicagem entre as zonas escura e clara são de tamanhos semelhantes.

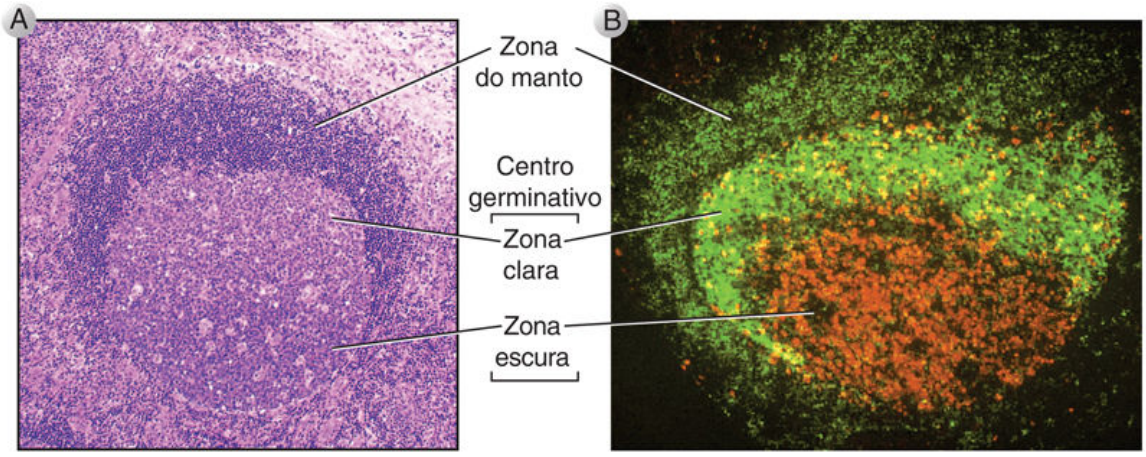


FIGURA 12.10 Centros germinativos em órgãos linfoides secundários.
A, O centro germinativo está junto ao folículo e inclui uma zona escura basal e uma zona clara adjacente. **B,** A zona clara contém células dendríticas foliculares, coradas com anticorpo anti-CD23 *(verde)*, enquanto a zona escura contém células B em proliferação, coradas com um anticorpo anti-Ki67 *(vermelho)*, que detecta células em ciclo. (**A,** cortesia de Dr. James Gulizia, Department of Pathology, Brigham and Women's Hospital, Boston, Massachusetts; **B,** modificado de Liu YJ, Johnson GD, Gordon J, MacLennan IC: Germinal centres in T-cell-dependent antibody responses, Immunology Today 13:17–21, Copyright 1992 com permissão da Elsevier.)

A arquitetura dos folículos linfoides e a reação de centro germinativo junto aos folículos depende da presença de **células dendríticas foliculares (FDCs, do inglês, *follicular dendritic cells*)**. As FDCs são encontradas somente em folículos linfoides e expressam receptores do complemento (CR1, CR2 e CR3) e receptores Fc. Essas moléculas estão envolvidas na exibição de antígenos para a seleção das células B do centro germinativo, conforme será descrito adiante. As FDCs não expressam moléculas de MHC de classe II e não derivam de progenitores na medula óssea. Assim, apesar do nome, diferem das células dendríticas que expressam MHC de classe II, as quais capturam antígenos nos tecidos e os transportam para órgãos linfoides onde apresentam peptídeos aos linfócitos T. Os longos processos citoplasmáticos das FDCs formam uma malha em torno da qual os centros germinativos são formados.

A reação de centro germinativo consiste em etapas sequenciais (Fig. 12.11). As células B em proliferação que passam pelo processo chamado hipermutação somática (veja adiante) se acumulam na zona escura do centro germinativo, que não contém FDCs nem células T. A pequena progênie (que não se divide) de células B migra para a zona clara adjacente, onde entram em estreito contato com os processos das abundantes FDCs e também formam contatos íntimos com as células Tfh, sendo este o local onde ocorrem os eventos de seleção subsequentes. Células selecionadas na zona clara retornam à zona escura e, assim, as células B passam por repetidas rodadas de mutação e seleção. Células B de alta afinidade selecionadas finalmente se diferenciam em plasmócitos e células B de memória, e saem do centro germinativo. A borda de células B *naive* no folículo, circundando o centro germinativo, é chamada zona do manto.

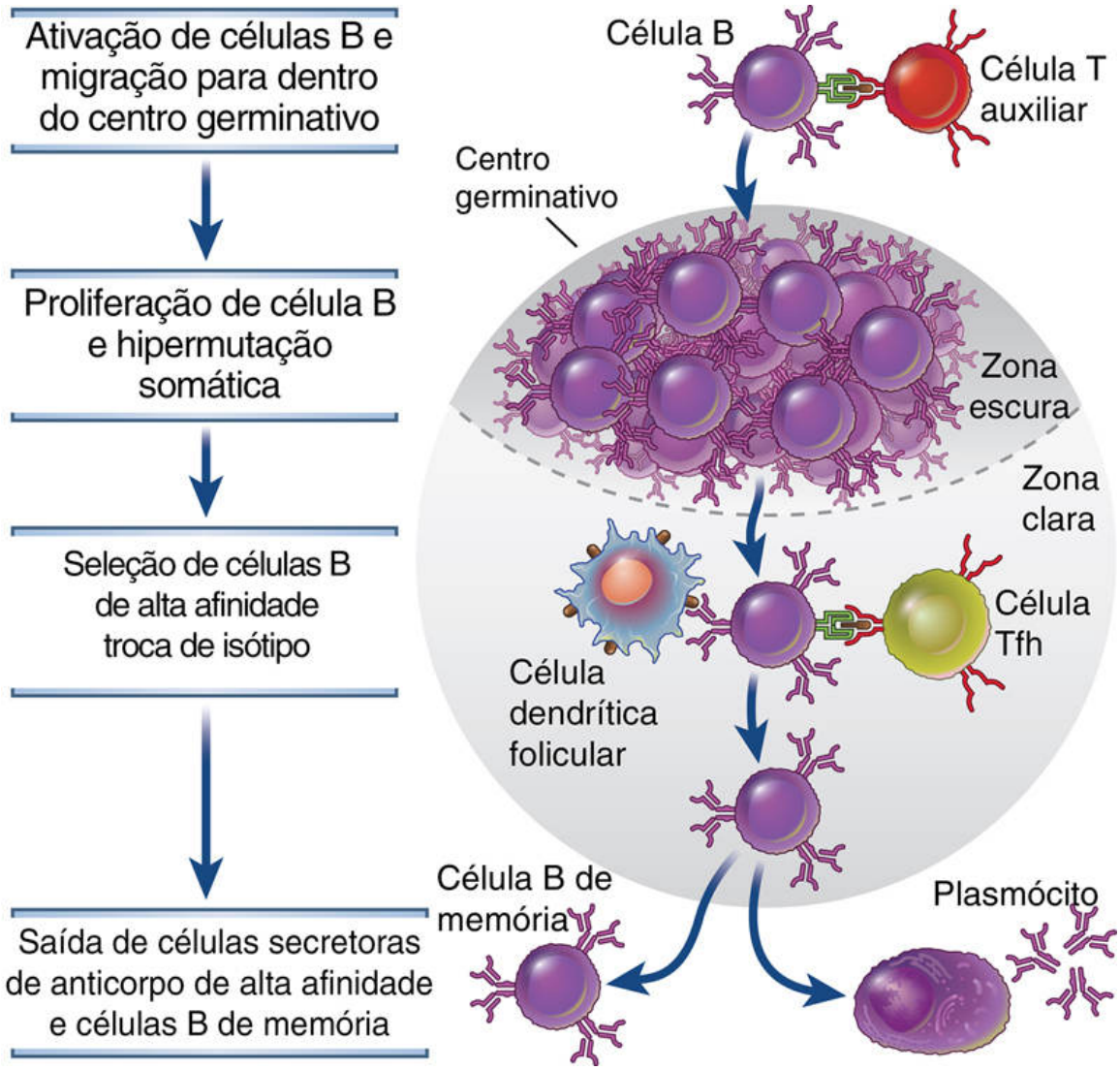


FIGURA 12.11 Reação de centro germinativo em um linfonodo. Células B ativadas migram para dentro do folículo e proliferam formando a zona escura do centro germinativo. Essas células B sofrem hipermutação somática dos genes *IgV* e migram para dentro da zona clara, onde encontram as células dendríticas foliculares exibindo antígeno e células Tfh. As células B com receptores Ig de maior afinidade são selecionadas para sobreviver e se diferenciam em células secretoras de anticorpo e células B de memória. As células secretoras de anticorpo saem e residem na medula óssea, como plasmócitos de vida longa, e as células B de memória entram no *pool* de linfócitos recirculantes.

A formação do centro germinativo depende da interação do CD40L nas células Tfh com o CD40 nas células B. Essa interação é decisiva para a proliferação da célula B, a qual é requerida para a expansão das células B nos centros germinativos, além de induzir nas células B a expressão da

enzima **desaminase ativação-induzida (AID, do inglês, *activation induced deaminase*)**, a qual é requerida para a troca de isotipo e maturação de afinidade, como descrito adiante. A formação do centro germinativo é defeituosa em seres humanos e em camundongos com defeitos genéticos envolvendo o desenvolvimento ou ativação da célula T, ou com mutações em CD40 ou em seu ligante (discutido anteriormente).

Agora que descrevemos as características básicas da reação de centro germinativo, discutiremos os eventos celulares e moleculares que dirigem esse processo.

A Indução e as Funções das Células T Auxiliares Foliculares

Dentro de 4-7 dias após a exposição antigênica, células B antígeno-específicas induzem algumas células T previamente ativadas a se diferenciarem em células Tfh que expressam altos níveis do receptor de quimiocina CXCR5, são atraídas para dentro dos folículos linfoides por CXCL13 (ligante de CXCR5) e exercem papéis essenciais na formação e função do centro germinativo. Além de CXCR5, as células Tfh expressam ICOS (do inglês, *inducible costimulator*), PD-1 (do inglês, *programmed death-1*), a citocina interleucina-21 (IL-21) e o fator de transcrição Bcl-6. As células Tfh exibem um fenótipo que as torna distintas das subpopulações de células T efetoras Th1, Th2 e Th17, descritas no Capítulo 10.

A diferenciação das células Tfh a partir das células T $CD4^+$ *naive* requer duas etapas: ativação inicial por células dendríticas apresentadoras de antígeno e subsequente ativação pelas células B (Fig. 12.12). A "escolha" entre um destino Th1, Th2 ou Th17, ou por um destino Tfh, depende em parte da força de interação inicial entre os complexos peptídeo-MHC de classe II nas células dendríticas e o receptor de célula T nas células T $CD4^+$ *naive*. A ativação forte do TCR pelas células dendríticas induz células Tfh por promover a expressão do repressor transcricional Bcl-6 e diminuir os níveis da cadeia α do receptor de IL-2 (IL-2R). Essa expressão inicial de Bcl-6 combinada à fraca sinalização de IL-2R inibe a aquisição de um destino celular Th1, Th2 ou Th17. Algumas dessas células T ativadas começam a expressar CXCR5 e sua diferenciação final em células Tfh requer interação com células B ativadas. Algumas moléculas presentes nas células B e na célula T auxiliar comprovadamente exercem papéis decisivos na geração de células Tfh. O coestimulador ICOS, que está relacionado ao CD28 e é expresso em células Tfh, é essencial à reação de centro germinativo. A interação de ICOS com ICOS-ligante nas células B

ativadas promove diferenciação de células T em células Tfh. As interações entre células B ativadas e células T auxiliares também são mediadas por membros da família de coestimuladores SLAM (Capítulo 7). Uma molécula sinalizadora que se associa a essas proteínas da família SLAM nas células Tfh é chamada SAP, e a sinalização de SAP estabiliza a expressão de reguladores transcricionais (em particular Bcl-6) requeridos para o desenvolvimento das células Tfh. SAP está mutado em pacientes com uma doença conhecida como síndrome linfoproliferativa ligada ao X, a qual está associada a defeitos nas respostas de anticorpos e de células T citotóxicas (Capítulo 21).

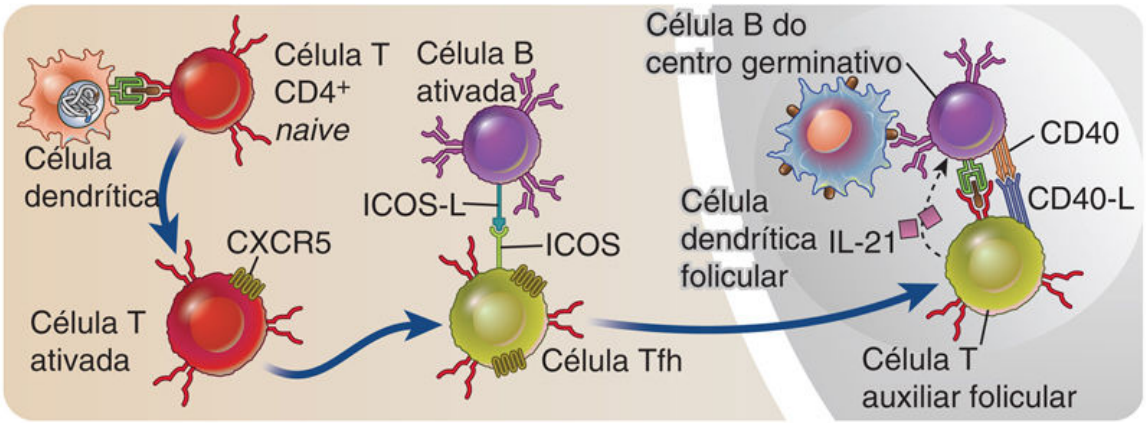


FIGURA 12.12 Eventos moleculares na geração da célula T auxiliar folicular.
A geração de células Tfh requer ativação sequencial de células T, primeiro pelas células dendríticas e, então, por células B ativadas. As células Tfh diferenciadas migram para dentro dos centros germinativos, onde ativam as células B.

A citocina definidora produzida pelas células Tfh é a IL-21. Essa citocina é requerida para o desenvolvimento do centro germinativo e contribui para a geração de plasmócitos na reação de centro germinativo. A IL-21 secretada pelas células Tfh também favorece os eventos de seleção da célula B no centro germinativo e a diferenciação de células B ativadas em plasmablastos. Além da IL-21, as células Tfh secretam outras citocinas, incluindo IFN-γ ou IL-4, e provavelmente baixos níveis de IL-17 também, sendo que todas essas citocinas podem participar na troca de isotipo.

Troca de Isotipo (Classe) de Cadeia Pesada

Nas respostas T-dependentes, uma parte da progênie de células B ativadas que expressam IgM e IgD passam pela troca de isotipo (classe) de cadeia pesada e produzem anticorpos com cadeias pesadas de diferentes classes, como γ, α e ε (Fig. 12.13). Um pouco da troca de isotipo ocorre nas células B junto aos focos extrafoliculares, dirigida por células T auxiliares extrafoliculares, porém o processo continua ocorrendo nos centros germinativos, dirigido pelas células Tfh na zona clara. A capacidade das células B de produzirem diferentes isotipos de anticorpo confere uma notável plasticidade às respostas imunes humorais gerando anticorpos que realizam funções efetoras distintas e estão envolvidos na defesa contra diferentes tipos de agentes infecciosos. As células B mudam os isotipos dos anticorpos que produzem alterando constantemente as regiões constantes das cadeias pesadas, mas a especificidade dos anticorpos (determinada pelas regiões variáveis) permanece inalterada. Os mecanismos moleculares responsáveis pela mudança das regiões constantes da cadeia pesada são descritos a seguir.

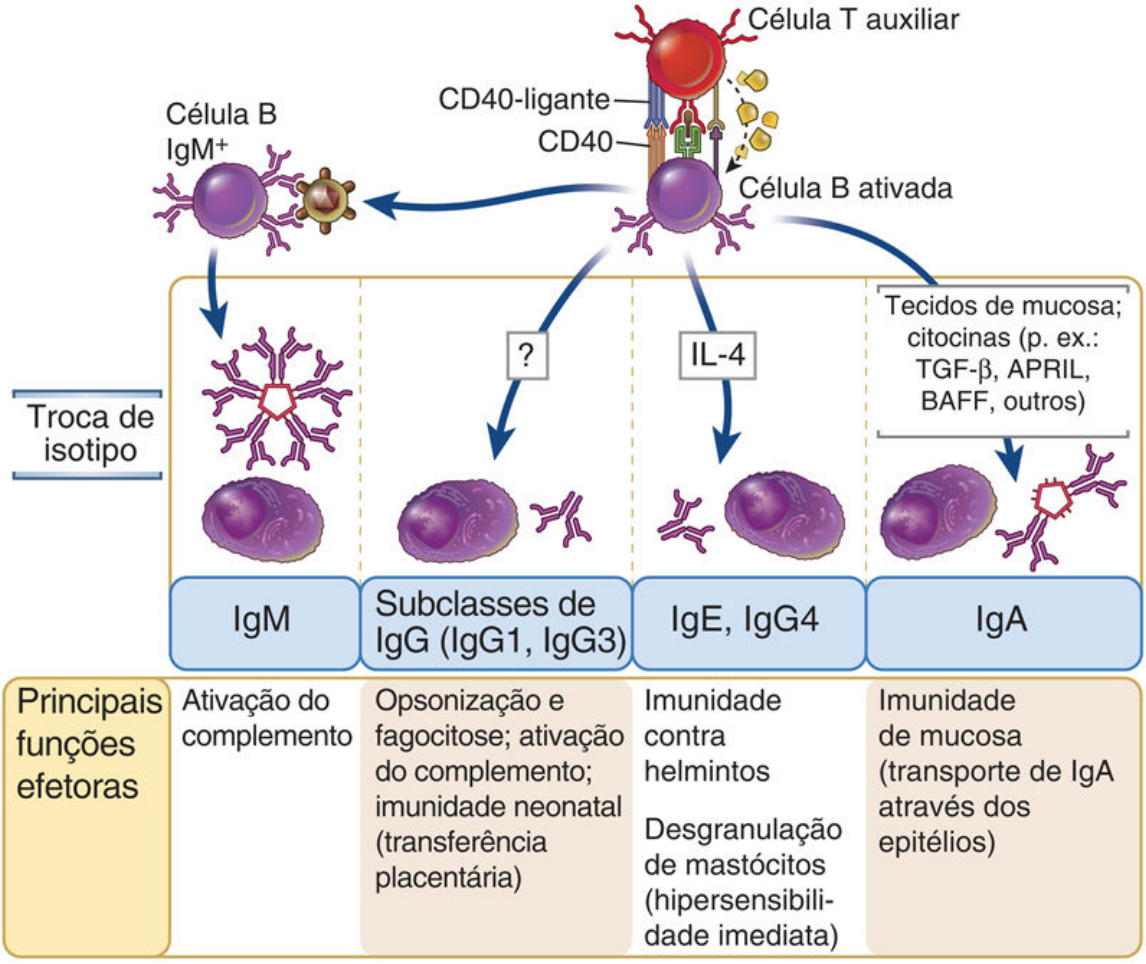


FIGURA 12.13 Troca de isotipo de cadeia pesada de Ig.
As células B ativadas pelos sinais da célula T auxiliar (CD40L, citocinas) sofrem troca para diferentes isotipos de Ig, os quais medeiam funções efetoras distintas. A ilustração mostra exemplos selecionados dos isotipos resultantes da troca. Todos os isotipos são capazes de neutralizar microrganismos e toxinas.

A troca de isotipo em resposta a diferentes tipos de microrganismos é regulada por citocinas produzidas pelas células T auxiliares que são ativadas por esses microrganismos. A troca do isotipo IgM original para o isotipo IgG é um aspecto proeminente das respostas de anticorpo T-dependentes contra muitas bactérias e vírus. As citocinas que dirigem esse processo em seres humanos não estão claramente definidas. Em camundongos, a troca para subclasses de IgG é induzida pela citocina IFN-γ, que é produzida por células Tfh ativadas pelos microrganismos. Os anticorpos IgG também são transferidos através da placenta para conferir proteção aos recém-nascidos, e têm meia-vida maior no soro, em comparação a outros isotipos, por isso a produção de IgG contribui de

muitas formas para a capacidade protetora da imunidade humoral (Capítulo 13).

A resposta humoral a muitos parasitas helmínticos é dominada por anticorpos IgE que participam na eliminação dos helmintos mediada por eosinófilos e mastócitos (Capítulos 13 e 16). Os anticorpos IgE também medeiam as reações de hipersensibilidade imediata (alérgicas) (Capítulo 20). É provável que os helmintos influenciem a diferenciação da célula Tfh e induzam células T auxiliares a produzirem citocinas do tipo Th2 durante a reação de centro germinativo.

Adicionalmente, as células B presentes em sítios anatômicos diferentes fazem a troca para isotipos diferentes, em parte por causa das citocinas produzidas nesses locais. De modo específico, as células B presentes nos tecidos de mucosa fazem a troca para IgA, que é a classe de anticorpo mais eficientemente transportada ao longo dos epitélios para as secreções mucosas, onde previne a entrada de microrganismos através dos epitélios (Capítulo 14). A troca para IgA é estimulada pelo fator de transformação do crescimento-β (TGF-β, do inglês, *transforming growth fator-β*), que é produzido por muitos tipos celulares, incluindo as células T auxiliares, tanto nas mucosas como em outros tecidos. As citocinas da família do TNF, BAFF e APRIL, também estimulam a troca para IgA. Como essas citocinas são produzidas por células mieloides, podem estimular respostas de IgA na ausência de ajuda da célula T. Alguns indivíduos que herdam versões mutantes do gene *TACI*, codificador de um receptor para essas citocinas, têm uma deficiência seletiva de produção de IgA (Capítulo 21).

Os sinais de CD40 atuam em conjunto com as citocinas para induzir a troca de isotipo. O engajamento de CD40 induz expressão da enzima AID que, como veremos mais tarde, é essencial tanto para a troca de isotipo como para a maturação de afinidade. O requerimento de sinalização por CD40 e AID para promoção da troca de isotipo em células B foi comprovada por análises de camundongos e seres humanos nos quais o CD40, CD40L ou AID estavam ausentes. Em todos esses casos, a resposta de anticorpo a antígenos proteicos é dominada por anticorpos IgM, e há uma troca limitada para outros isotipos.

O mecanismo molecular da troca de isotipo é um processo chamado recombinação de troca, em que o DNA da cadeia pesada de Ig nas células B é cortado e recombinado de modo que um éxon VDJ previamente formado, codificador do domínio V, é colocado adjacente a uma região C* downstream*, e o DNA interveniente é removido (Fig. 12.14). Esses eventos de recombinação de DNA envolvem sequências nucleotídicas chamadas regiões de troca, localizadas nos íntrons entre os segmentos J e C nas

extremidades 5′ de cada *locus* C_H, que não o gene δ. As regiões de troca medem 1-10 quilobases de comprimento, contêm numerosas repetições em tandem de sequências de DNA ricas em GC e são encontradas *upstream* a cada gene de cadeia pesada. *Upstream* a cada região de troca, há um pequeno éxon chamado éxon I (de iniciador de transcrição) precedido por um promotor de região I. Os sinais das citocinas induzem transcrição a partir da leitura de uma região promotora I particular, ao longo do éxon I, região de troca e éxons C_H adjacentes. Esses transcritos são conhecidos como transcritos de linhagem germinativa. Não são traduzidos em proteínas, mas são requeridos para o prosseguimento da troca de isotipo. Os transcritos de linhagem germinativa são encontrados no *locus* μ e no *locus* de cadeia pesada *dowstream*, ao qual uma célula B ativada está sendo induzida a fazer a troca. Em cada região de troca participante, o transcrito de linhagem germinativa facilita a geração de quebras na fita dupla de DNA, como descrito adiante. A quebra no DNA na região de troca *upstream* (μ) é unida à quebra na região de troca selecionada *downstream*. Como resultado, o éxon VDJ rearranjado *upstream* da região de troca μ na célula B produtora de IgM recombina com o gene de cadeia pesada de Ig localizado imediatamente após a região de troca *downstream* transcricionalmente ativa.

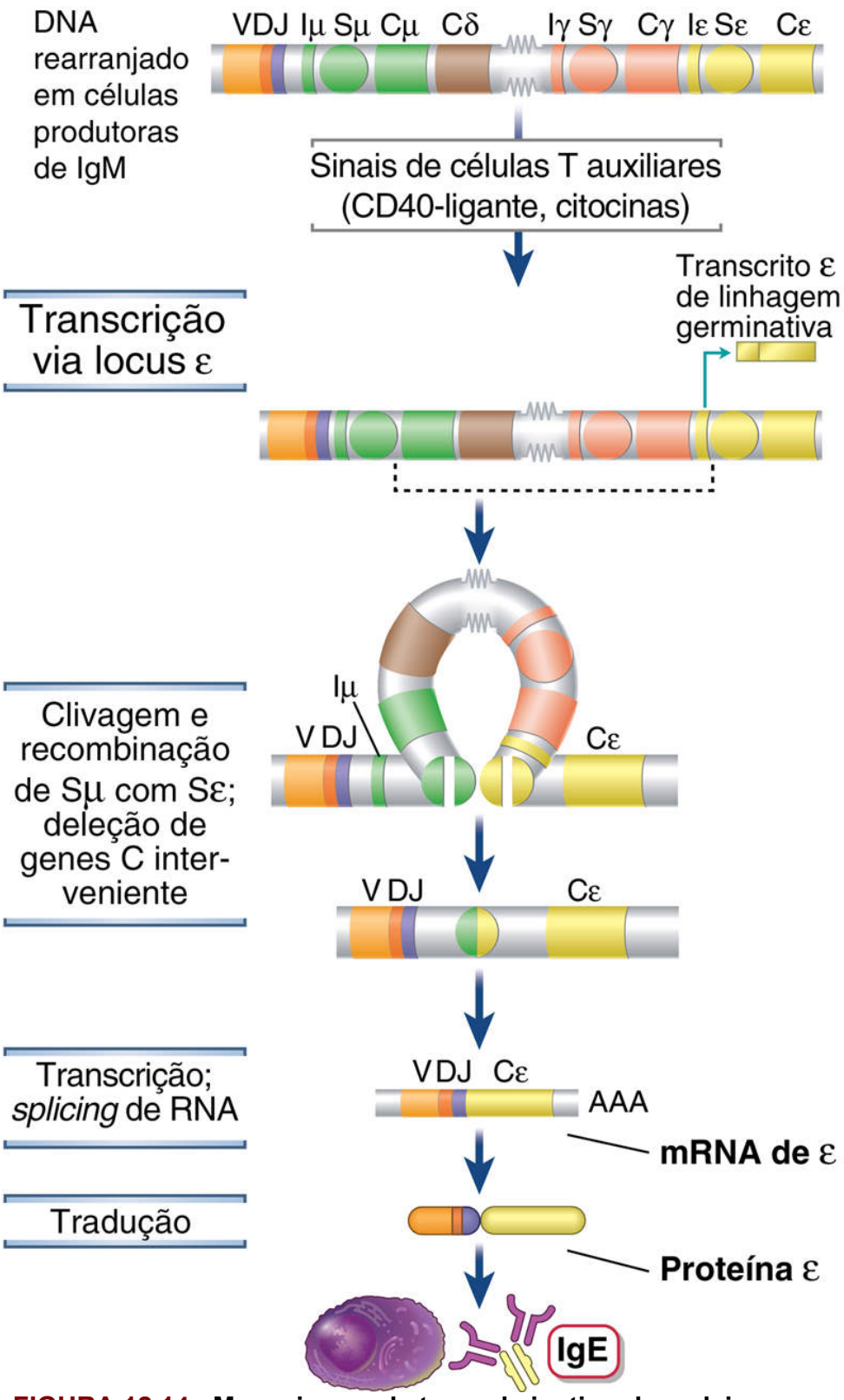


FIGURA 12.14 Mecanismos de troca de isotipo de cadeia pesada.
Quando as células B antígeno-ativadas encontram sinais da célula

T auxiliar (CD40L e, neste exemplo, IL-4), as células B sofrem troca para isotipos de Ig que não IgM (no exemplo, IgE). Esses estímulos iniciam a transcrição na linhagem germinativa via *locus* Iε-Sε-Cε, e os genes de C_H proximais são removidos, levando à recombinação do éxon VDJ *upstream* ao *locus* μ com o gene Cε. As regiões de troca estão indicadas por círculos e rotuladas como Sμ, Sγ e Sε. Iμ, Iγ e Iε representam os sítios de iniciação para a transcrição da linhagem germinativa. (Note que há múltiplos genes Cγ localizados entre os genes de Cδ e Cε e Cα, *downstream* a Cε, porém isso não foi mostrado.)

As citocinas determinam qual região C_H sofrerá transcrição da linhagem germinativa. Exemplificando, a IL-4 induz transcrição de linhagem germinativa ao longo do *locus* Iε-Sε-Cε (Fig. 12.14). Isso leva primeiro à produção de transcritos ε de linhagem germinativa em uma célula B que expressa IgM e, então, à recombinação da região de troca Sμ com a região de troca Sε. O DNA interveniente é perdido e o éxon VDJ é assim colocado adjacente a Cε. O resultado final é a produção de IgE com o mesmo domínio V que o da IgM original produzida pela célula B.

A enzima-chave necessária à troca de isotipo (e à hipermutação somática, descrita posteriormente) é a AID. Como mencionado antes, a expressão de AID é induzida em células B ativadas principalmente por sinais de CD40 oriundos das células Tfh. A enzima remove o grupo amino das citosinas em moldes de DNA de fita única, convertendo resíduos de citosina (C) em resíduos uracil (U) desaminados (Fig. 12.15). A AID é dirigida para as regiões de troca de um modo ainda pouco conhecido. Essa enzima tem predileção por certos motivos tetranucleotídeos contendo GC. As regiões de troca são ricas nesses motivos e a transcrição citocina-induzida ao longo dessas regiões (ver a seguir) as torna acessíveis à AID. Entretanto, motivos similares estão presentes ao longo de todo o genoma e a especificidade aumentada de AID pelas regiões de troca pode ser parcialmente explicada pelo fato de estas regiões ricas em GC contribuírem para uma crescente lentificação da RNA polimerase II que, quando retardada, recruta a AID de maneira eficiente. Os transcritos da região de troca tendem a formar híbridos estáveis de DNA-RNA envolvendo a fita-molde de DNA, liberando assim a fita que não é o molde, que forma uma alça aberta de DNA de fita única chamada alça R. A geração de DNA fita única pela formação da alça R é decisiva, porque a AID pode ser direcionada apenas para DNA de fita única. A alça R, portanto, é uma região onde um amplo número de resíduos C na sequência de DNA de troca são convertidos em resíduos U pela AID. Uma

enzima chamada uracil N-glicosilase (UNG) remove os resíduos U, deixando sítios abásicos. A endonuclease ApeI cliva esses sítios abásicos gerando um corte em cada posição. Embora as alças R facilitem a formação de descontinuidades na fita de DNA que não é molde, uma quebra na fita dupla de DNA requer que os cortes também sejam gerados no molde oposto de DNA. O RNA da região de troca rica em GC que permanece firmemente ligado à fita-molde de DNA é degradado por um complexo proteico chamado exossomo de RNA, expondo assim temporariamente os resíduos C na fita-molde e permitindo que AID, UNG e ApeI também gerem alguns cortes nessa fita. Os cortes gerados em ambas as fitas contribuem para as quebras na fita dupla, tanto na região de troca "doadora" Sμ como na região de troca "aceptora" *downstream*, envolvida em um evento de troca de um isotipo particular. As quebras na fita dupla em ambas as regiões de troca são unidas (ligadas) pelo uso da maquinaria envolvida no reparo das quebras na fita dupla pela junção de extremidades não homólogas. Nesse processo, o DNA entre as duas regiões de troca é deletado, e o resultado líquido é que o DNA da região V rearranjada original é fundido a uma nova região constante.

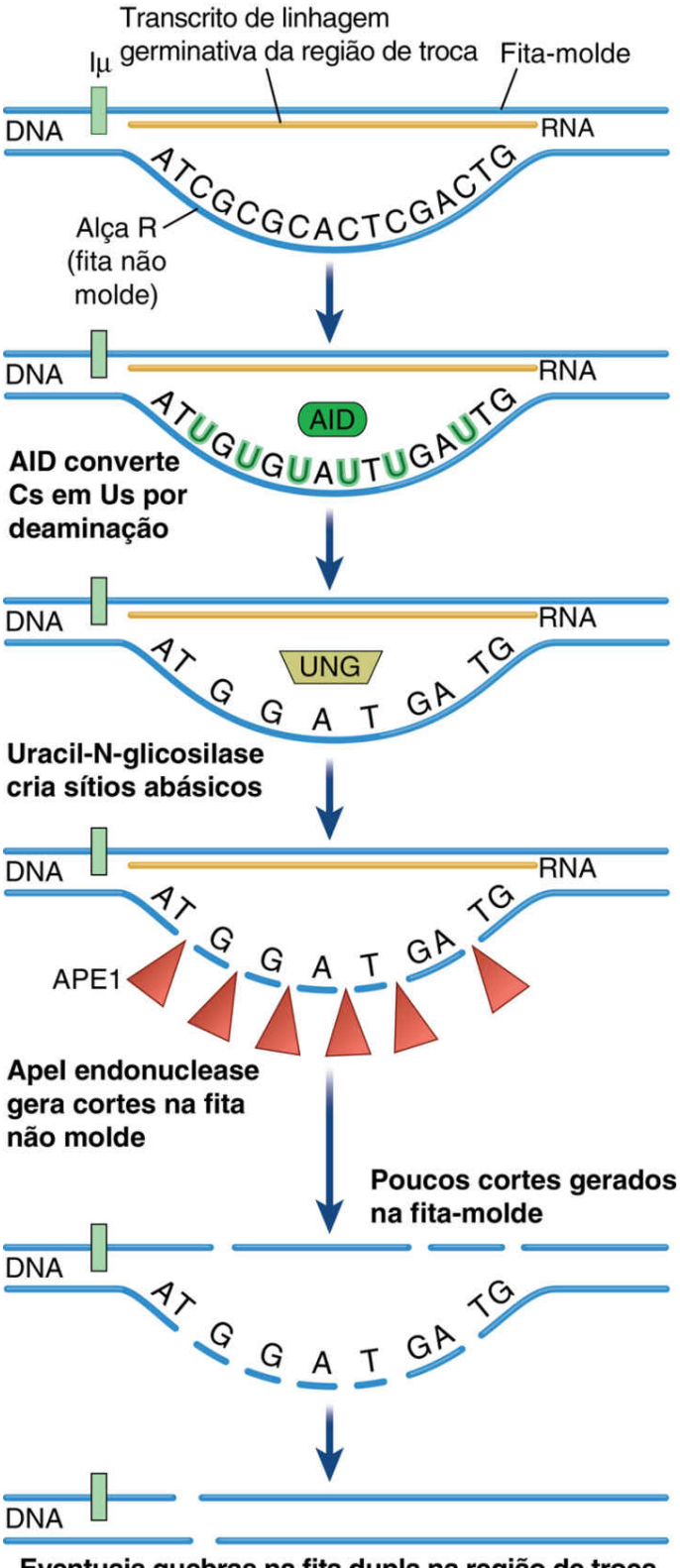


FIGURA 12.15 Mecanismo pelo qual a desaminase ativação-induzida gera quebras na fita dupla nas regiões de troca.
Os transcritos de linhagem germinativa formam híbridos de DNA-

RNA na região de troca e a AID faz a desaminação dos resíduos C para gerar resíduos U no DNA de fita única. A uracil-N-glicosilase (UNG) remove resíduos U para gerar sítios abásicos onde a endonuclease ApeI cria cortes que levam a uma quebra na fita dupla. Embora essa figura somente ilustre a geração de uma quebra na fita dupla na região de troca μ, uma quebra similar na fita dupla ocorre mais ou menos ao mesmo tempo na região de troca para um isotipo a *downstream*, facilitando assim a recombinação de troca e a troca de isotipo.

Maturação de Afinidade: Mutação Somática de Genes de Ig e Seleção de Células B de Alta Afinidade

A maturação de afinidade é o processo que leva a uma afinidade aumentada de anticorpos por um antígeno particular, à medida que uma resposta humoral T-dependente progride, e é o resultado da mutação somática de genes de Ig seguida da sobrevivência seletiva das células B produtoras dos anticorpos com as maiores afinidades. O processo de maturação de afinidade gera anticorpos com capacidade crescente de se ligar a antígenos e, assim, de neutralizar mais eficientemente e eliminar microrganismos e suas toxinas (Fig. 12.16). Células T auxiliares e interações CD40-CD40L são requeridas para que a mutação somática seja iniciada e, como resultado, a maturação de afinidade é observada somente nas respostas de anticorpo a antígenos proteicos T-dependentes.

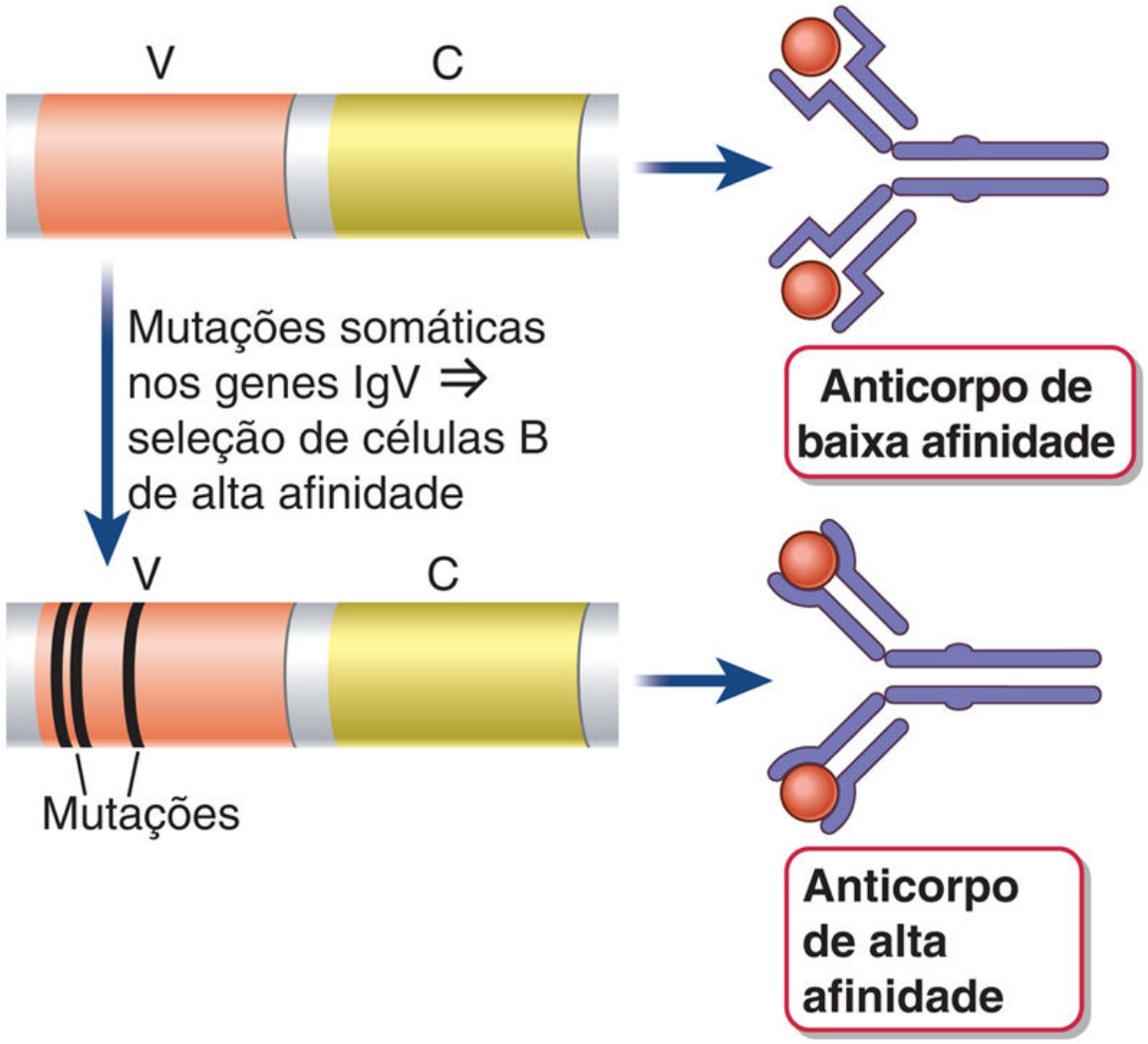


FIGURA 12.16 Visão geral da maturação de afinidade. No início da resposta imune, anticorpos de baixa afinidade são produzidos. Durante a reação de centro germinativo, a mutação somática dos genes *IgV* e a seleção de células B com receptores antigênicos de alta afinidade resultam na produção de anticorpos com alta afinidade pelo antígeno.

Nas células B do centro germinativo em proliferação encontradas na zona escura, genes* IgV *rearranjados sofrem mutações pontuais a uma taxa extremamente alta. Estima-se que essa taxa seja de 1 em 10^3 pares de bases do gene *V* por divisão celular, que é cerca de 1.000 vezes maior do que a taxa espontânea de mutação em outros genes de mamíferos. Por esse motivo, a mutação em genes *IgV* rearranjados também é chamada **hipermutação somática**. Os genes *V* de cadeias pesada e leve expressos em cada célula B contêm um total de cerca de 700 nucleotídeos; isso implica

que as mutações irão se acumular em regiões V expressas, a uma taxa média de quase 1 por divisão celular. Mutações no gene *IgV* continuam ocorrendo na progênie de células B individuais. Como resultado, qualquer clone de célula B pode acumular um número cada vez maior de mutações ao longo de sua vida, no centro germinativo. Estima-se que, como consequência de mutações somáticas, as sequências nucleotídicas de anticorpos IgG derivadas de um clone de células B podem divergir da sequência de linhagem germinativa original em até 5%. Isso em geral se traduz em até 10 substituições de aminoácidos. As mutações são agrupadas nas regiões V, principalmente nas regiões determinantes de complementaridade (CDRs; do inglês, *complementarity-determining regions*) ligadoras de antígeno (Fig. 12.17), e a presença de mutações se correlaciona com afinidades crescentes dos anticorpos pelo antígeno indutor da resposta.

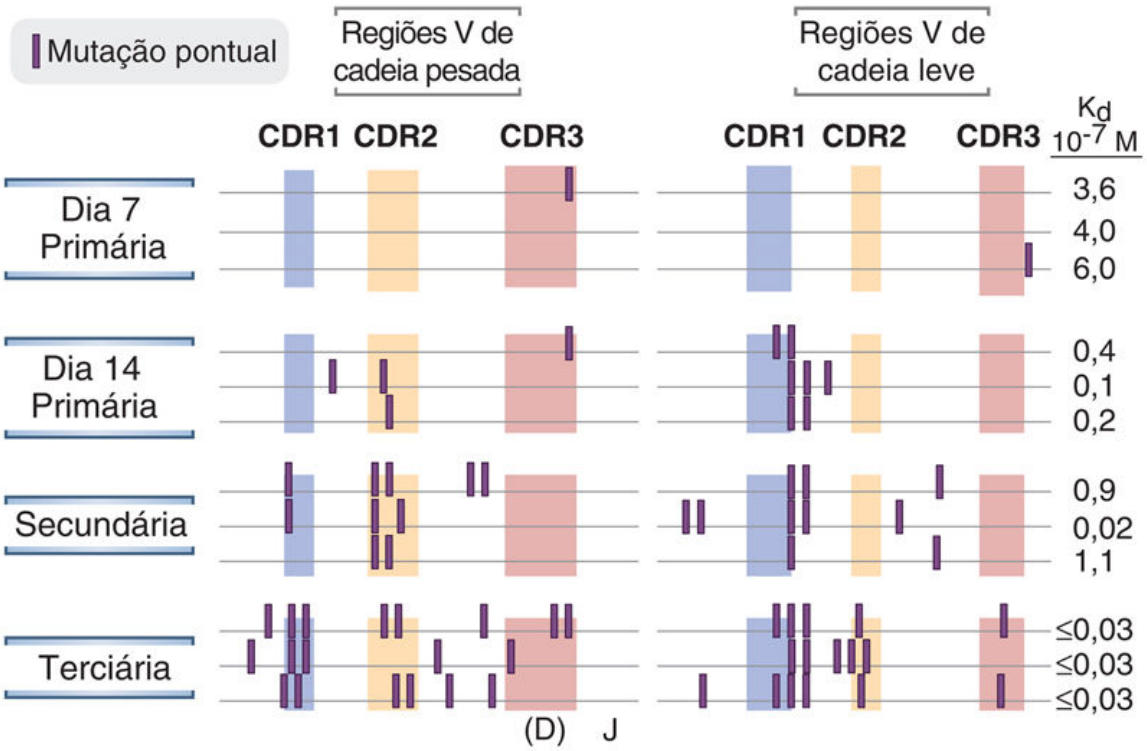


FIGURA 12.17 Mutações somáticas em genes *Ig V*. Hibridomas foram produzidos a partir de células esplênicas de camundongos imunizados 7 ou 14 dias antes com um hapteno, oxazolona, acoplado a uma proteína, e com células esplênicas obtidas após as imunizações secundária e terciária feitas com o mesmo antígeno. Hibridomas produtores de anticorpos monoclonais oxazolona-específicos foram produzidos, e as sequências nucleotídicas dos genes *V* codificadoras das cadeias pesada e leve de Ig foram determinadas. As mutações nos genes *V* aumentam com o tempo após a imunização e com imunizações repetidas, além de serem agrupadas nas regiões determinantes de complementariedade (CDRs, do inglês, *complementarity-determining regions*). A localização de CDR3 nas cadeias pesadas é aproximada. As afinidades dos anticorpos produzidos também tendem a aumentar com mais mutações, conforme indicado pelas constantes de dissociação (K_d) menores para ligação do hapteno. (Modificado de Berek C, Milstein C: Mutation drift and repertoire shift in maturation of the immune response, Immunological Reviews 96:23–41, 1987, Blackwell Publishing.)

A enzima AID, discutida anteriormente no contexto de troca de isotipo, também exerce papel essencial na maturação da afinidade. A atividade de DNA desaminase da AID converte resíduos C em resíduos U em pontos de acesso específicos tetranucleotídicos (AGCT) encontrados ao longo de todo o genoma, mas que são dirigidos primariamente nas regiões V

rearranjadas (ou nas regiões de troca, como já discutido). AID pode reconhecer sequências na localização do éxon VDJ rearranjado, e isso explica, ao menos em parte, porque as regiões V rearranjadas são altamente suscetíveis a mutações. O mecanismo pelo qual esses éxons VDJ rearranjados são especificamente escolhidos, todavia, ainda é desconhecido. Os Us gerados a partir dos Cs podem ser mudados para Ts quando ocorre a replicação do DNA, gerando assim um tipo comum de mutação de C para T, ou o U pode ser excisado pela UNG e o sítio abásico então gerado é reparado por meio de um processo de reparo de DNA propenso a erros, eventualmente gerando substituições com qualquer um dos quatro nucleotídeos de DNA em cada sítio de desaminação de citidina AID-induzida. Duas enzimas, MSH2 e MSH6, envolvidas normalmente no processo de reparo de incompatibilidade de DNA, são participantes importantes na hipermutação somática. MSH2 e MSH6 podem recrutar nucleases que removem não só o nucleotídeo uridina "não natural" como também os nucleotídeos adjacentes. Essa extensão mutada é então reparada por uma DNA polimerase propensa a erros, e isso estende as mutações para os resíduos localizados além dos resíduos C escolhidos pela AID. Ainda não está claro como dois mecanismos de reparo de DNA bem conhecidos — o reparo de excisão de base (em que a UNG é um componente importante) e o reparo de incompatibilidade — os quais normalmente são processos de alta fidelidade, recrutam DNA polimerases propensas a erro em células B no centro germinativo no contexto de hipermutação somática.

A estimulação repetida por antígenos proteicos dependentes de célula T leva a números crescentes de mutações nos genes de Ig de células B antígeno-específicas no centro germinativo. Algumas dessas mutações tendem a ser úteis porque irão gerar anticorpos de alta afinidade. Entretanto, muitas mutações podem resultar em declínio ou até em perda de ligação antigênica. Portanto, a etapa seguinte e decisiva no processo de maturação de afinidade é a seleção das células B mais úteis e de maior afinidade, um tipo de seleção natural Darwiniana que garante a sobrevivência das melhores células B (as mais adaptadas em termos de ligação antigênica).

As células B que se ligam com alta afinidade a antígenos nos centros germinativos são selecionadas para sobreviver (Fig. 12.18). A resposta inicial ao antígeno resulta na produção de anticorpos, alguns dos quais formam complexos com antígeno residual e podem ativar o complemento. As células dendríticas foliculares expressam receptores para as porções Fc de anticorpos e para os produtos de ativação do complemento, incluindo

C3b e C3d. Esses receptores se ligam e exibem antígenos que estejam complexados com anticorpos e produtos do complemento. O antígeno também pode ser exibido na forma livre, no centro germinativo. Enquanto isso, as células B do centro germinativo que sofreram mutação somática migram para dentro da zona clara rica em FDCs, do centro germinativo. Essas células B morrem por apoptose, a menos que sejam resgatadas pelo reconhecimento antigênico. Somente as células B com receptores de alta afinidade conseguem se ligar ao antígeno quando este é apresentado em baixas concentrações, e essas células B sobrevivem preferencialmente graças a vários mecanismos. Primeiro, o reconhecimento antigênico por si só induz expressão de proteínas anti-apoptóticas da família Bcl-2. Em segundo lugar, as células B de alta afinidade endocitarão preferencialmente e apresentarão o antígeno, interagindo com números limitantes de células Tfh no centro germinativo. Essas células T auxiliares podem sinalizar via CD40L, para promover a sobrevivência das células B com as quais interagem.

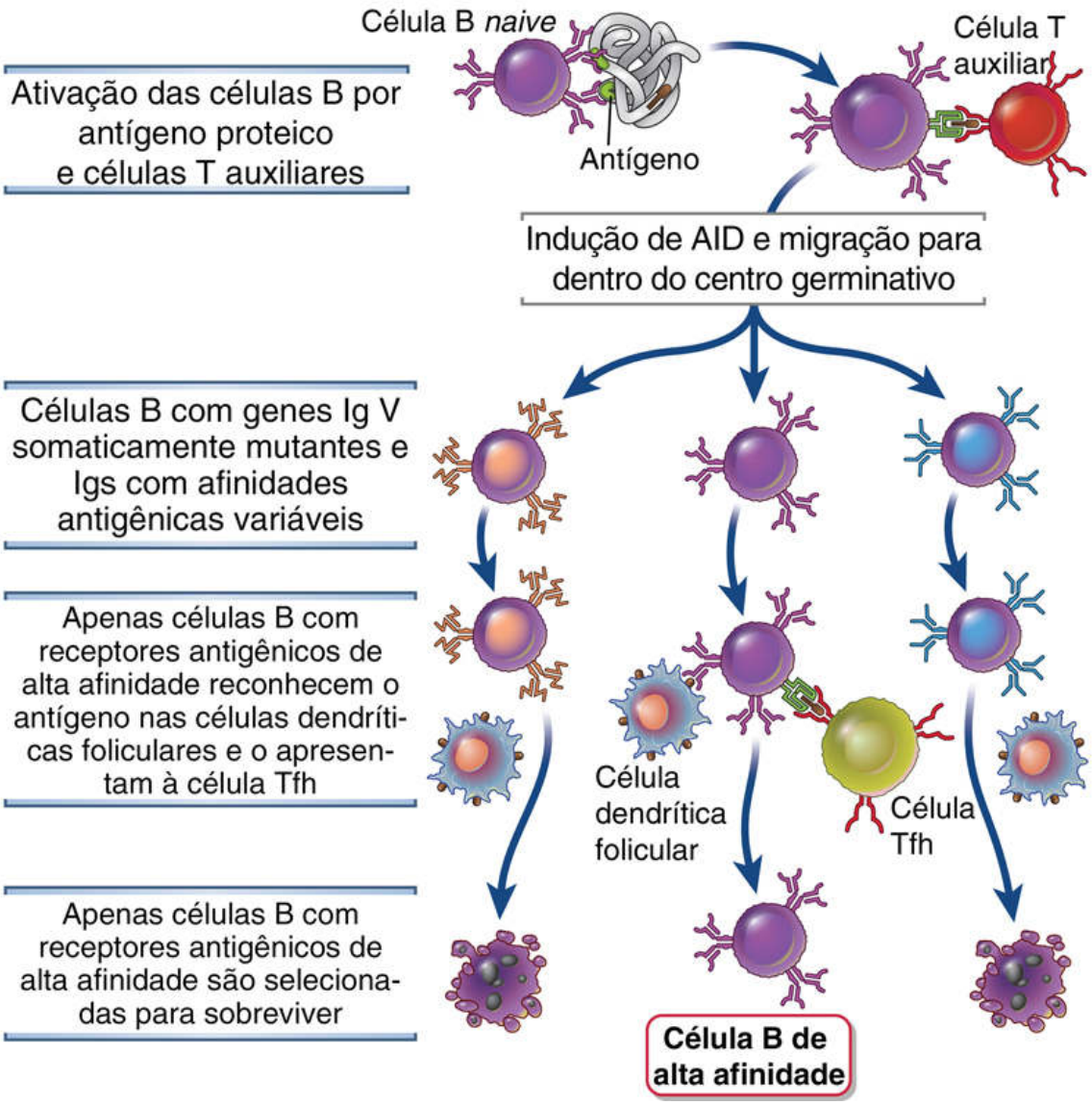


FIGURA 12.18 Seleção de células B nos centros germinativos. A mutação somática de genes *V* em células do centro germinativo gera anticorpos com diferentes afinidades antigênicas. A ligação das células B ao antígeno exibido nas células dendríticas foliculares é necessária para resgatar as células B da morte celular programada. As células B também podem apresentar antígeno para células Tfh de centro germinativo, e isso promove a sobrevivência das células B. As células B com maior afinidade pelo antígeno, portanto, têm uma vantagem seletiva para sobrevivência, uma vez que a quantidade de antígeno disponível diminui durante uma resposta imune. Isso leva a um aumento médio na afinidade dos anticorpos pelo antígeno, conforme a resposta imune humoral progride.

Conforme mais anticorpo é produzido, mais do antígeno é eliminado e menos fica disponível nos centros germinativos. Portanto, as células B que serão capazes de se ligar especificamente a esse antígeno e assim serem resgatadas da morte precisam expressar receptores antigênicos com afinidades cada vez maiores pelo antígeno. Como resultado, conforme a resposta de anticorpo a um antígeno progride, as células B selecionadas para sobreviver nos centros germinativos produzem Ig de afinidade crescente pelo antígeno. Esse processo de seleção resulta em maturação de afinidade da resposta de anticorpo. Como a mutação somática também gera muitas células B que não expressam receptores de alta afinidade para antígeno e, portanto, não podem ser selecionadas para sobreviver, os centros germinativos são sítios em que ocorrem um tremendo processo de apoptose.

A mutação somática ocorre nas células B junto à zona escura basal dos centros germinativos, onde as células expressam AID nuclear, e as células B de alta afinidade são selecionadas na zona clara, onde podem sofrer troca de isotipo adicional. As células selecionadas então se diferenciam em células B de memória ou em precursores secretores de anticorpo de alta afinidade de plasmócitos, os quais saem do centro germinativo.

As quebras de DNA associadas à hipermutação somática e à troca de isotipo predispõem a translocações cromossômicas de vários oncogenes para o interior de *loci* gênicos de Ig, produzindo tumores de células B (linfomas). Isso explica porque muitos linfomas se desenvolvem a partir de células B do centro germinativo. Os centros germinativos também podem contribuir para a patogênese da autoimunidade, se a mutação somática levar um clone de células B no centro germinativo a se tornar fortemente autorreativo.

Diferenciação da Célula B em Plasmócitos Secretores de Anticorpos

Os plasmócitos são células B morfologicamente distintas e terminalmente diferenciadas, comprometidas com uma abundante produção de anticorpos (Capítulo 2). São gerados após a ativação de células B por meio de sinais oriundos do BCR, CD40, TLRs e outros receptores, incluindo receptores de citocinas.

Existem dois tipos de plasmócitos.

- Plasmócitos de vida curta são gerados durante as respostas T-independentes e no início das respostas T-dependentes em focos

de células B extrafoliculares (descrito anteriormente). Essas células geralmente são encontradas em órgãos linfoides secundários e tecidos periféricos não linfoides.

- Plasmócitos de vida longa são gerados em respostas de centro germinativo T-dependentes a antígenos proteicos. Sinais oriundos do receptor antigênico da célula B e da IL-21 cooperam na geração de plasmócitos e seus precursores, chamados **plasmablastos**. Os plasmablastos são encontrados principalmente na circulação, onde podem ser identificados como células secretoras de anticorpo que não expressam CD20, um marcador de células B maduras. Os plasmablastos gerados nos centros germinativos entram na circulação e passam a residir na medula óssea, onde se diferenciam em plasmócitos de vida longa. Esses plasmócitos são mantidos por citocinas da família BAFF, as quais se ligam a um receptor de membrana no plasmócito, chamado BCMA, permitindo assim que as células sobrevivam por longos períodos. Tipicamente, 2-3 semanas após a imunização com antígeno dependente de célula T, a medula óssea se torna um dos principais sítios de produção de anticorpos. Na medula óssea, os plasmócitos podem continuar secretando anticorpos por décadas após a total eliminação do antígeno. Esses anticorpos podem conferir proteção imediata, caso o antígeno seja encontrado posteriormente. Estima-se que quase metade dos anticorpos presentes no sangue de um adulto saudável seja produzida por plasmócitos de vida longa e seja específica para os antígenos encontrados no passado. Os anticorpos secretados entram na circulação e secreções de mucosas, porém os plasmócitos não recirculam.

A diferenciação de células B em plasmócitos secretores de anticorpo envolve alterações estruturais relevantes em componentes do retículo endoplasmático e da via secretora, além da produção aumentada de Ig, bem como uma alteração nas cadeias pesadas de Ig da forma de membrana para a forma secretada. A célula aumenta drasticamente de tamanho, e a razão entre a área do citoplasma e o núcleo observados ao microscópio também sofre um aumento impressionante (Fig. 2.8). O retículo endoplasmático se torna proeminente, e a célula é transformada em célula secretora que mostra pouca ou nenhuma semelhança com um linfócito B.

A alteração na produção de Ig, da forma de membrana (característica das células B) para a forma secretada (nos plasmócitos) resulta em um

carboxiterminal modificado na proteína da cadeia pesada de Ig (Fig. 12.19). Exemplificando, na cadeia μ de membrana, Cμ4 é seguida de um espaçador curto, 26 resíduos hidrofóbicos e uma cauda citoplasmática contendo três aminoácidos (lisina, valina e lisina). Na IgM secretada, por outro lado, o domínio Cμ4 é seguido de uma peça caudal contendo aminoácidos polares. Essa transição da Ig de membrana para uma Ig secretada é causada pelo processamento alternativo de RNA do RNA mensageiro (mRNA) da cadeia pesada. O transcrito primário de RNA em todas as células B produtoras de IgM contém o cassete VDJ rearranjado, os quatro éxons Cμ codificadores de domínios de região constante (C), e os dois éxons codificadores dos domínios transmembrana e citoplasmático. O processamento alternativo desse transcrito, que é regulado pela clivagem do RNA e a escolha de sítios de poliadenilação, determina se os éxons transmembrana e citoplasmático serão ou não incluídos no mRNA maduro. Quando são incluídos, a cadeia μ produzida contém os aminoácidos que constituem os segmentos transmembrana e citoplasmático, sendo assim ancorada na bicamada lipídica da membrana plasmática. Por outro lado, se o segmento transmembrana for excluído da cadeia μ, o carboxiterminal então consistirá em cerca de 20 aminoácidos constituindo a peça caudal. Como essa proteína não tem uma extensão de aminoácidos hidrofóbicos nem uma cauda citoplasmática positivamente carregada, não pode permanecer ancorada na membrana do retículo endoplasmático e é, então, secretada. Dessa forma, cada célula B pode sintetizar tanto Ig de membrana como Ig secretada. A maioria do mRNA da cadeia pesada de Ig em um plasmócito é clivada em um sítio de poliadenilação *upstream*, por isso a maioria deste mRNA é da forma secretada. Todos os genes de C_H contêm éxons de membrana similares, e todas as cadeias pesadas podem ser potencialmente expressas nas formas ligada à membrana e secretada.

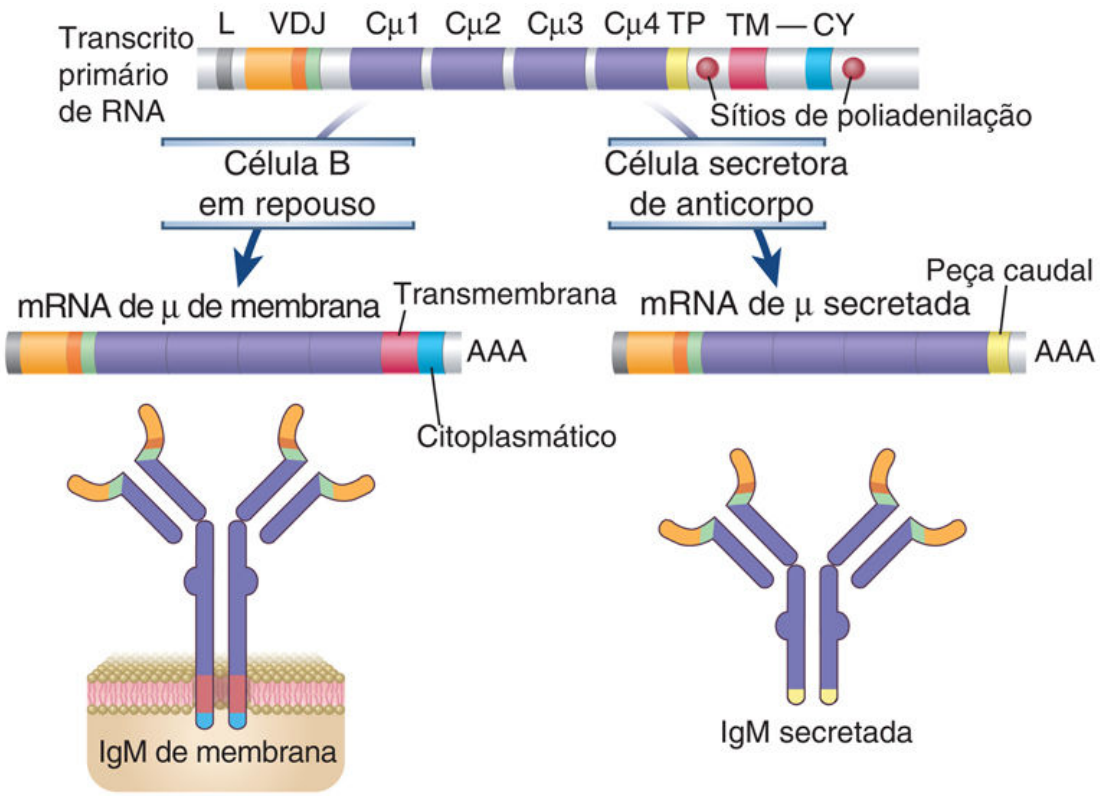


FIGURA 12.19 Produção de cadeias μ de membrana e secretada em linfócitos B.
O processamento alternativo de um transcrito primário de RNA resulta na formação de mRNA para a forma de membrana ou para a forma secretada da cadeia pesada μ. A diferenciação da célula B resulta em uma crescente fração da proteína μ produzida na forma secretada. PC, TM e CI se referem à peça caudal e aos segmentos transmembrana e citoplasmático, respectivamente. AAA se refere à poliadenilação. Cμ1, Cμ2, Cμ3 e Cμ4 são quatro éxons do gene *Cμ*.

Geração de Células B de Memória

As células B de memória são geradas durante a reação centro germinativo e são capazes de produzir respostas rápidas diante da subsequente introdução do antígeno. Como as células de memória são geradas principalmente nos centros germinativos, são vistas nas respostas imunes T-dependentes. Algumas células B ativadas nos centros germinativos adquirem a capacidade de sobreviver por longos períodos, aparentemente sem continuar a estimulação antigênica. Essas células B de memória expressam níveis altos da proteína antiapoptótica Bcl-2, e isso contribui para sua expectativa de vida prolongada. Algumas células B de memória podem permanecer no órgão linfoide onde foram geradas, enquanto

outras saem dos centros germinativos e recirculam entre o sangue e os órgãos linfoides. As células de memória tipicamente expressam receptores antigênicos de alta afinidade (mutantes), e muitas podem ter isotipos trocados. A produção de grandes quantidades de anticorpos com isotipo trocado e de alta afinidade é bastante acelerada após a segunda exposição aos antígenos, sendo que isso pode ser atribuído à ativação das células de memória. Muitas características das respostas de anticorpo secundárias a antígenos proteicos, bem como suas diferenças em relação às respostas primárias (Fig. 12.2), refletem as diferenças existentes entre as respostas de células de memória e de células B *naive*, respectivamente.

As vacinas efetivas contra microrganismos e toxinas microbianas devem induzir maturação de afinidade e formação de célula B de memória, sendo que esses eventos somente ocorrerão se as vacinas forem capazes de ativar as células T auxiliares. Esse conceito foi aplicado ao *design* de vacinas para algumas infecções bacterianas em que o antígeno-alvo é um polissacarídeo capsular incapaz de estimular células T. Nesses casos, o polissacarídeo é covalentemente ligado a uma proteína estranha, para formar o equivalente a um conjugado hapteno-carreador capaz de ativar células T auxiliares. Essas vacinas, chamadas **vacinasconjugadas**, induzem mais prontamente anticorpos de alta afinidade e células de memória, em comparação ao obtido com vacinas de polissacarídeos sem proteínas ligadas. As vacinas conjugadas se mostraram particularmente efetivas na indução de imunidade protetora em bebês e crianças pequenas, que são menos capazes de produzir respostas T-independentes fortes aos polissacarídeos, em comparação aos adultos.

Papel de Reguladores Transcricionais na Determinação do Destino das Células B Ativadas

O desfecho da diferenciação da célula B é regulado pela indução e ativação de diferentes fatores de transcrição. A discussão conduzida até aqui esclareceu que as células B ativadas podem seguir diversos destinos. Podem se desenvolver em plasmócitos de vida curta ou longa, secretores de grandes quantidades de anticorpos, ou em células de memória de vida longa, que não secretam anticorpos e sobrevivem por períodos prolongados, além de responderem rapidamente ao desafioantigênico. No Capítulo 10, discutimos o conceito de que os destinos da célula T são determinados, em grande parte, pela expressão de vários ativadores e repressores transcricionais. O mesmo princípio geral se aplica aos destinos das células B ativadas. Os principais fatores de transcrição envolvidos na

determinação do destino das células B de centro germinativo são os seguintes:

- ***Bcl-6.*** Nas células B de centro germinativo, os sinais emitidos via CD40 e receptor de IL-21 induzem expressão de Bcl-6, que atua como repressor transcricional para manter a reação de centro germinativo, em particular a proliferação em massa das células do centro germinativo. Bcl-6 reprime a expressão de inibidores de quinase ciclina-dependente e, desse modo, coopera com os ativadores transcricionais, como c-Myb, para orquestrar a rápida entrada das células B de centro germinativo no ciclo celular. Bcl-6 também reprime p52, um fator de transcrição mediador da parada do ciclo celular e da morte celular apoptótica subsequente ao dano no DNA. Como resultado, as células B da zona escura podem tolerar o dano ao DNA que acompanha a troca de isotipo e a hipermutação somática sem sofrerem apoptose. Bcl-6 antagoniza outro repressor transcricional chamado Blimp-1 (do inglês, *B lymphocyte-induced maturation protein 1*), que é requerido para o desenvolvimento do plasmócito (ver adiante), e assim previne as células no centro germinativo de se diferenciarem precocemente em plasmócitos durante a proliferação em massa característica da reação de centro germinativo.
- ***Blimp-1 e IRF4.*** Blimp-1, um repressor transcricional, e IRF4, um ativador transcricional, são induzidos em algumas células B ativadas e tornam essas células comprometidas com um destino de plasmócito. Além de suprimirem Bcl-6, o repressor que mantém a reação de célula B no centro germinativo, Blimp-1 suprime um segundo fator de transcrição, Pax5, requerido para a manutenção de células B maduras. Assim, Blimp-1 é permissivo para o desenvolvimento do plasmócito. IRF4 contribui para a expressão de XBP-1, um fator de transcrição que exerce papel decisivo na resposta às proteínas não dobradas. XBP-1 protege os plasmócitos em desenvolvimento contra as consequências lesivas das proteínas não dobradas (produzidas em consequência do enorme aumento da síntese proteica), além de contribuir para a maturação dos plasmócitos e para a síntese intensificada de Ig observada nessas células.
- Os fatores de transcrição que delineiam o desenvolvimento da célula B de memória ainda precisam ser identificados. Parece que uma parte da progênie de um clone de célula B antígeno-

estimulada expressa níveis baixos de IRF4, transformando-se em células de memória de longa duração, funcionalmente quiescentes e autorrenováveis. Embora altos níveis de IRF4 levem à diferenciação em plasmócito, níveis menores de IRF4 são insuficientes para dirigir uma célula B ativada à diferenciação em plasmócito e, portanto, podem ser permissivos para a geração de células B de memória.

Respostas de Anticorpos a Antígenos T-Independentes

Muitos antígenos não proteicos, como os polissacarídeos, lipídeos e ácidos nucleicos, estimulam a produção de anticorpos na ausência de células T auxiliares, e esses antígenos e as respostas que elicitam são denominados "timo-independentes" ou TI. Essas respostas de anticorpos diferem quanto a vários aspectos das respostas a antígenos proteicos dependentes de célula T (Tabela 12.3). Os anticorpos produzidos sem ajuda da célula T geralmente são de baixa afinidade e consistem principalmente em IgM, com uma troca de isotipo limitada a alguns subtipos de IgG e também a IgA.

Tabela 12.3

Propriedades dos Antígenos Timo-Dependentes e Timo-Independentes

	Antígenos Timo-Dependentes	Antígenos Timo-Independentes
Natureza Química	Proteínas	Antígenos poliméricos, em especial polissacarídeos; também glicolipídeos, ácidos nucleicos
Características da Resposta de Anticorpos		
Troca de isotipo	Sim; IgG, IgE e IgA	Níveis baixos de IgG e IgA
Maturação de afinidade	Sim	Não
Resposta secundária (células B de memória)	Sim	Menos; vista apenas com alguns polissacarídeos

Subpopulações de Células B que Respondem a Antígenos T-Independentes

As subpopulações de células B da zona marginal e B-1 são especialmente importantes para as respostas de anticorpo a antígenos TI. Embora as respostas a antígenos proteicos T-dependentes sejam amplamente

mediadas por células foliculares, outras subpopulações de células B podem ser respondedores primários a antígenos TI (Fig. 12.3). As células B da zona marginal são uma população distinta de células B que respondem principalmente aos polissacarídeos. Após a ativação, essas células se diferenciam em plasmócitos de vida curta produtores principalmente de IgM. As células B-1 representam outra linhagem de células B que respondem prontamente a antígenos TI, sobretudo no peritônio e em sítios de mucosa.

As respostas de anticorpo T-independentes podem ser iniciadas principalmente no baço, cavidade peritoneal e sítios de mucosa. Macrófagos localizados nas zonas marginais que circundam folículos linfoides no baço são particularmente eficientes na captura de polissacarídeos, quando esses antígenos são injetados por via intravenosa. Os antígenos TI podem persistir por períodos prolongados nas superfícies dos macrófagos da zona marginal, onde são reconhecidos por células B específicas.

Mecanismos das Respostas de Anticorpo T-Independentes

Os antígenos T-independentes são capazes de estimular a proliferação e diferenciação da célula B sem ajuda da célula T. Os antígenos TI mais importantes são os polissacarídeos, glicolipídeos e ácidos nucleicos. Todos esses tipos de antígenos são capazes de induzir produção de anticorpos específicos em animais deficientes de célula T. Esses antígenos não podem ser processados e apresentados em associação com as moléculas de MHC, de modo a não poderem ser reconhecidos pelas células T auxiliares $CD4^+$. A maioria dos antígenos TI são mutivalentes, compostos por epítopos antigênicos idênticos repetidos. Esses antígenos multivalentes podem induzir ligação cruzada máxima do complexo BCR, presente nas células B específicas, levando à ativação sem necessidade de ajuda da célula T cognata. Em adição, muitos polissacarídeos ativam o sistema complemento pela via alternativa ou da lectina, gerando C3d que se liga ao antígeno e é reconhecido por CR2, aumentando assim a ativação da célula B (Fig. 12.5). Como já mencionado, as respostas TI também podem ser facilitadas por sinais adicionais emitidos por produtos microbianos que ativam TLRs nas células B.

Embora as respostas TI tipicamente exibam pouca troca de isotipo, alguns antígenos não proteicos TI induzem isotipos de Ig que não a IgM. Em seres humanos, a classe de anticorpo dominante induzida pelo

polissacarídeo capsular pneumocócico é IgG2. Em camundongos modificados por engenharia genética para serem deficientes de CD40, a IgE e muitas subclasses de IgG são praticamente indetectáveis no soro, porém os níveis séricos de IgG3 (semelhantes à IgG2 humana) e de IgA são reduzidos a apenas cerca de metade de seus níveis normais. As citocinas produzidas por células não T podem estimular a troca de isotipo nas respostas TI. Como já descrito, na ausência de células T, MAFF e APRIL produzidas por células de origem mieloide, como células dendríticas e macrófagos, podem induzir a síntese de AID em células B ativadas por antígeno através de um receptor da família de receptores de BAFF, o chamado TACI. Isso pode ser adicionalmente facilitado pela ativação de TLRs nestas células. Além disso, citocinas como TGF-β, que auxiliam a mediar a troca para IgA nas células B, são secretadas por muitas células não linfoides em sítios de mucosa, podendo contribuir para a geração de anticorpos IgA dirigidos contra antígenos não proteicos (Capítulo 14).

Proteção Mediada por Anticorpos T-Independentes

O significado prático dos antígenos TI é que muitos polissacarídeos de parede celular bacteriana pertencem a esta categoria, e a imunidade humoral é o principal mecanismo de defesa do hospedeiro contra infecções por esse tipo de bactérias encapsuladas. Por esse motivo, indivíduos com deficiências congênitas ou adquiridas de imunidade humoral são especialmente suscetíveis a infecções que ameacem a vida com bactérias encapsuladas, como pneumococos, meningococos e *Haemophilus*.

Os antígenos TI contribuem ainda para a geração de **anticorpos naturais**, que estão presentes na circulação de indivíduos normais e aparentemente são produzidos sem exposição evidente a patógenos. A maioria dos anticorpos naturais são anticorpos de baixa afinidade contra carboidratos, postulados como sendo produzidos por células B-1 peritoneais estimuladas por bactérias colonizadoras do trato gastrintestinal, e por células B da zona marginal no baço. Uma proporção notavelmente ampla de anticorpos naturais em seres humanos e camundongos são específicos para lipídeos oxidados, incluindo grupos de cabeça fosfolipídica, como lisofosfatidilcolina e fosforilcolina, encontrados em membranas bacterianas e células apoptóticas, todavia não expostos na superfície das células hospedeiras sadias. Evidências experimentais indicam que os anticorpos naturais específicos para esses fosfolipídeos conferem proteção contra infecções bacterianas e facilitam a fagocitose das

células apoptóticas. Os anticorpos antigrupo sanguíneo ABO, outro exemplo de anticorpos naturais, reconhecem certos glicolipídeos (antígenos de grupo sanguíneo) expressos na superfície de muitos tipos celulares, incluindo as células sanguíneas. Os anticorpos naturais específicos para antígenos de grupo sanguíneo são importantes como barreiras à transfusão de sangue e ao transplante, mas são irrelevantes para a defesa do hospedeiro e serão discutidos no Capítulo 17.

Apesar de sua incapacidade de ativar especificamente células T auxiliares, muitas vacinas polissacarídicas, como a vacina contra pneumococos, induzem imunidade protetora de duração bastante prolongada. Respostas secundárias rápidas e amplas, tipicamente de memória (contudo sem muita troca de isotipo nem maturação de afinidade), também podem ocorrer na segunda exposição a estes antígenos carboidratos.

Feedback de Anticorpos: Regulação das Respostas Imunes Humorais por Receptores Fc

Os anticorpos secretados inibem a ativação contínua da célula B formando complexos antígeno-anticorpo que simultaneamente se ligam a receptores antigênicos e a receptores Fcγ inibidores nas células B antígeno-específicas (Fig. 12.20). Essa é a explicação para um fenômeno chamado ***feedback*** **de anticorpos**, que se refere à regulação negativa da produção de anticorpos por ação de anticorpos IgG secretados. Os anticorpos IgG inibem a ativação da célula B formando complexos com o antígeno. E esses complexos se ligam a um receptor de célula B para as porções Fc da IgG, chamado receptor FcγII (FcγRIIB ou CD32). (Discutiremos os receptores Fc no Capítulo 13.) A cauda citoplasmática de FcγRIIB contém um motivo de inibição com base na tirosina do imunorreceptor (ITIM, do inglês, *immunoreceptor tyrosine-based inhibition motif*) (Capítulo 7). Quando este receptor Fcγ é engajado, o ITIM na cauda citosólica do receptor é fosforilado nos resíduos de tirosina e forma um sítio de ancoragem para a inositol 5-fosfatase SHIP (do inglês, *SH2 domain-containing inositol phosphatase*). A SHIP recrutada hidrolisa um fosfato no intermediário lipídico sinalizador, o PIP3 (do inglês, *phosphatidylinositol triphosphate*), e inativa essa molécula. Por esse mecanismo, o engajamento de FcγRIIB termina a resposta da célula B ao antígeno. Os complexos antígeno-anticorpo simultaneamente interagem com o receptor antigênico (através do antígeno) e com FcγRIIB (através do anticorpo), e isso aproxima as fosfatases inibitórias e os receptores antigênicos cuja sinalização é bloqueada.

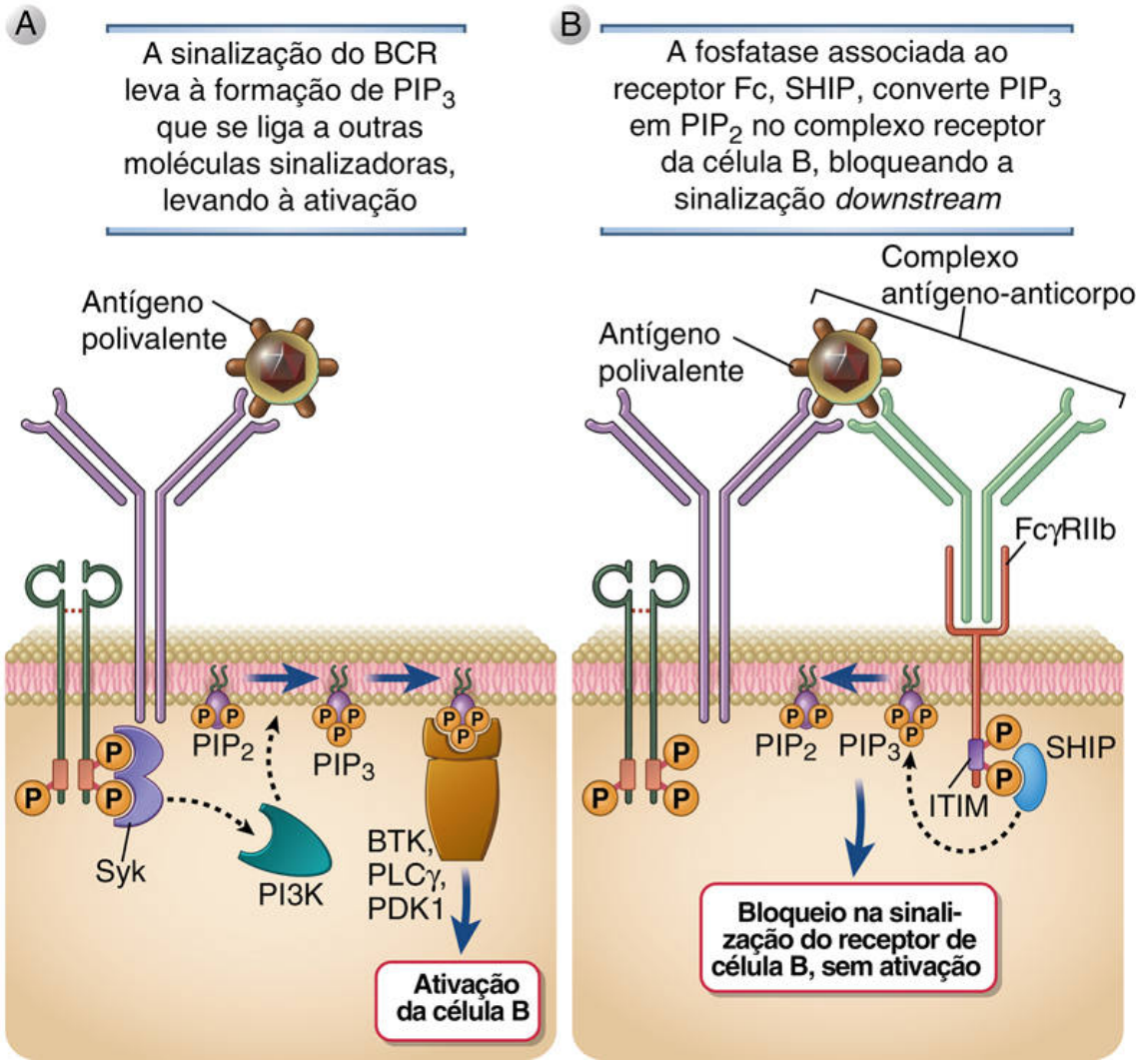


FIGURA 12.20 Regulação da ativação da célula B por FcγRIIB. **A,** Complexos antígeno-anticorpo podem simultaneamente se ligar à Ig de membrana (através do antígeno) e ao receptor FcγRIIB (pela porção Fc do anticorpo). **B,** Como consequência dessa ligação simultânea de receptores, as fosfatases associadas à cauda citoplasmática de FcγRIIB inibem a sinalização pelo complexo BCR e bloqueiam a ativação da célula B.

O *feedback* de anticorpos mediado pelo receptor Fc é um mecanismo de controle fisiológico nas respostas imunes humorais, uma vez que é deflagrado pelo anticorpo secretado e bloqueia a produção adicional de anticorpo. A importância da inibição mediada por FcγRIIB é demonstrada pela produção descontrolada de anticorpo vista em camundongos *knockout* para o gene codificador desse receptor. Um polimorfismo no gene *FcγRIIB* foi associado a suscetibilidade à doença autoimune conhecida como lúpus eritematoso sistêmico, em seres humanos.

As células B expressam outro receptor de inibição chamado CD22, que é uma lectina ligante de ácido siálico. Seu ligante natural é desconhecido e também não se sabe exatamente como o CD22 é engajado durante as respostas fisiológicas da célula B. No entanto, camundongos *knockout* para CD22 mostram ativação de célula B significativamente aumentada. A cauda citoplasmática dessa molécula contém resíduos de tirosina ITIM que, quando fosforilados pela quinase Lyn, da família Src, ligam-se ao domínio SH2 da tirosina fosfatase SHP-1. A SHP-1 remove fosfatos dos resíduos de tirosina de várias enzimas e proteínas adaptadoras envolvidas na sinalização de BCR, anulando assim a ativação da célula B. Uma linhagem murina chamada *motheaten*, que desenvolve uma grave autoimunidade com ativação descontrolada da célula B e produção de autoanticorpos, tem uma mutação de ocorrência natural em SHP-1. A deleção condicional de SHP-1, bem como a perda de Lyn por engenharia genética em células B leva à quebra da tolerância da célula B periférica e ao desenvolvimento de autoimunidade.

Resumo

- Nas respostas imunes humorais, os linfócitos B são ativados pelo antígeno e secretam anticorpos que atuam eliminando o antígeno. Ambos os antígenos, proteico e não proteico, podem estimular as respostas de anticorpos. As respostas de célula B aos antígenos proteicos requerem contribuição de células T auxiliares $CD4^+$ específicas para o antígeno.
- As respostas de célula B dependentes de célula T auxiliar a antígenos proteicos requerem ativação inicial independente das células T *naive* nas zonas de célula T e de células B nos folículos linfoides, junto aos órgãos linfoides, cada um dos quais específico para uma parte distinta do mesmo antígeno proteico.
- Uma célula B que reconhece um epítopo específico no antígeno proteico internaliza a proteína, a processa, e exibe o epítopo peptídico específico em suas moléculas de MHC de classe II.
- Os linfócitos ativados migram na direção um do outro e interagem nas bordas dos folículos, onde as células B apresentam o antígeno peptídico para células T auxiliares ativadas.
- As células T auxiliares ativadas expressam CD40L que, por sua vez, engaja CD40 nas células B, enquanto as células T secretam citocinas que se ligam aos receptores de citocina nas células B. A combinação de sinais de CD40 e citocinas estimula a proliferação e diferenciação da célula B.
- A estimulação de células B ativadas em sítios extrafoliculares por células T auxiliares leva à formação de focos extrafoliculares, onde ocorre um pouco de troca de isotipo e são gerados plasmócitos de vida curta.
- Algumas células T auxiliares se diferenciam em células Tfh especializadas que expressam altos níveis de ICOS e CXCR5, e secretam IL-21. As células Tfh e as células B ativadas migram para dentro do folículo, sendo que as células Tfh ativam essas células B específicas para que iniciem a formação dos centros germinativos. Os últimos eventos nas respostas de anticorpo dependentes de célula T, incluindo um extensiva troca de isotipo, mutação somática, maturação de afinidade, geração de células B de memória e indução de plasmócitos de vida longa, ocorrem junto aos centros germinativos.

- Os sinais derivados da célula T auxiliar, incluindo CD40L e citocinas, induzem troca de isotipo nas células B via um processo de recombinação de troca, levando à produção de vários isotipos de Ig. A troca de isotipo requer indução de AID, uma citidina desaminase que converte citosina em uracil no DNA de fita única, e diferentes citocinas permitem que a AID acesse *loci* distintos de cadeia pesada *downstream*.
- A maturação de afinidade ocorre nos centros germinativos e leva a uma crescente afinidade de anticorpos no decorrer da resposta humoral dependente de célula T. A maturação de afinidade resulta de mutação somática nos genes das cadeias pesada e leve de Ig, induzida pela AID, seguida da sobrevida seletiva das células B produtoras de anticorpos de alta afinidade e que se ligam ao antígeno exibido pelas FDCs nos centros germinativos. As células Tfh também participam na seleção de células B de alta afinidade.
- Uma parte da progênie das células B do centro germinativo se diferencia em plasmócitos secretores de anticorpo que migram para a medula óssea. Outra parte da progênie se transforma em células B de memória que vivem por longos períodos, recirculam entre os linfonodos e o baço, e respondem rapidamente a exposições subsequentes ao antígeno se diferenciando em secretoras de anticorpos de alta afinidade. A expressão de vários fatores de transcrição controla a diferenciação de células B ativadas em plasmócitos ou células de memória.
- Os antígenos T-independentes (TI) são geralmente antígenos não proteicos indutores de respostas imunes humorais sem envolvimento de células T auxiliares. Muitos antígenos TI, incluindo polissacarídeos, glicolipídeos de membrana e ácidos nucleicos, são multivalentes, podem fazer ligação cruzada com múltiplas moléculas de Ig de membrana em uma célula B, e ativam o complemento, ativando assim as células B sem a ajuda da célula T. A ativação de TLRs nas células B por produtos microbianos facilita a ativação T-independente da célula B.
- Os antígenos TI estimulam as respostas de anticorpo em que há troca limitada de classe de cadeia pesada, maturação de afinidade ou geração de células B de memória, uma vez que esses eventos são amplamente dependentes das células T auxiliares, as quais não são ativadas por antígenos não proteicos. Entretanto, alguma troca de isotipo T-independente pode ser induzida pela estimulação de

TLR pelos microrganismos, podendo levar à produção de citocinas da família do TNF que ativam células B para indução da AID.

- O *feedback* de anticorpos é um mecanismo pelo qual as respostas imunes humorais são negativamente reguladas quando uma quantidade suficiente de anticorpo é produzida e há presença de complexos anticorpo-antígeno solúveis. A Ig de membrana da célula B e o receptor nas células B para as porções Fc da IgG, chamado FcγRIIB, são agrupados por complexos anticorpo-antígeno. Isso ativa uma cascata de sinalização inibitória ao longo da cauda citoplasmática de FcγRIIB, a qual termina a ativação da célula B.

Referências Sugeridas

Subpopulações de Células B e Ativação das Células B

Cerutti A, Cols M, Puga I. Marginal zone B cells: virtues of innate-like antibody-producing lymphocytes. *Nat Rev Immunol*. 2013;13:118–132.

Gonzalez SF, Degn SE, Pitcher LA, et al. Trafficking of B cell antigen in lymph nodes. *Annu Rev Immunol*. 2011;29:215–233.

Goodnow CC, Vinuesa CG, Randall KL, et al. Control systems and decision making for antibody production. *Nat Immunol*. 2010;11:681–688.

Kurosaki T, Kometani K, Ise W. Memory B cells. *Nat Rev Immunol*. 2015;15:149–159.

Mauri C, Bosma A. Immune regulatory function of B cells. *Annu Rev Immunol*. 2012;30:221–241.

Nutt SL, Hodgkin PD, Tarlinton DM, Corcoran LM. The generation of antibody-secreting plasma cells. *Nat Rev Immunol*. 2015;15:160–171.

Rickert RC. New insights into pre-BCR and BCR signalling with relevance to B cell malignancies. *Nat Rev Immunol*. 2013;13:578–591.

Yuseff MI, Pierobon P, Reversat A, Lennon-Dumenil AM. How B cells capture, process and present antigens: a crucial role for cell polarity. *Nat Rev Immunol*. 2013;13:475–486.

Células T Auxiliares Foliculares e a Reação de Centro Germinativo

Crotty S. T follicular helper cell differentiation, function, and roles in disease. *Immunity*. 2014;41:529–542.

Crotty S. A brief history of T cell help to B cells. *Nat Rev Immunol*. 2015;15:185–189.

De Silva NS, Klein U. Dynamics of B cells in germinal centres. *Nat Rev Immunol*. 2015;15:137–148.

King C. New insights into the differentiation and function of T follicular helper cells. *Nat Rev Immunol*. 2009;9:757–766.

McHeyzer-Williams M, Okitsu S, Wang N, McHeyzer-Williams L. Molecular programming of B cell memory. *Nat Rev Immunol*. 2012;12:24–34.

Radbruch A, Muehlinghaus G, Luger EO, et al. Competence and competition: the challenge of becoming a long-lived plasma cell. *Nat Rev*

Immunol. 2006;6:741–750.

Tangye SG, Ma CS, Brink R, Deenick EK. The good, the bad and the ugly—TFH cells in human health and disease. *Nat Rev Immunol*. 2013;13:412–426.

Victora GD, Nussenzweig MC. Germinal centers. *Annu Rev Immunol*. 2012;30:429–457.

Vinuesa CG, Linterman MA, Yu D, MacLennan IC. Follicular helper T cells. *Annu Rev Immunol*. 2016;34:335–368.

Deaminase Ativação-Induzida, Troca de Classe e Mutação Somática

Cerutti A. The regulation of IgA class switching. *Nat Rev Immunol*. 2008;8:421–434.

Hwang JK, Alt FW, Yeap LS. Related mechanisms of antibody somatic hypermutation and class switch recombination. *Microbiol Spectr*. 2015;3: MDNA3-0037-2014.

Kato L, Stanlie A, Begum NA, et al. An evolutionary view of the mechanism for immune and genome diversity. *J Immunol*. 2012;188:3559–3566.

Liu M, Schatz DG. Balancing AID and DNA repair during somatic hypermutation. *Trends Immunol*. 2009;30:173–181.

Neuberger MS. Antibody diversification by somatic mutation: from Burnet onwards. *Immunol Cell Biol*. 2008;86:124–132.

Stavnezer J, Guikema JE, Schrader CE. Mechanism and regulation of class switch recombination. *Annu Rev Immunol*. 2008;26:261–292.

Vaidyanathan B, Chaudhuri J. Epigenetic codes programming class switch recombination. *Front Immunol*. 2015;6:405.

CAPÍTULO 13

Mecanismos Efetores da Imunidade Humoral

VISÃO GERAL DA IMUNIDADE HUMORAL

NEUTRALIZAÇÃO DE MICRORGANISMOS E TOXINAS MICROBIANAS

OPSONIZAÇÃO E FAGOCITOSE MEDIADAS POR ANTICORPOS
- Receptores Fc em Leucócitos
- Citotoxicidade Celular Dependente de Anticorpo
- Eliminação de Helmintos Mediada por Anticorpo

O SISTEMA COMPLEMENTO
- Vias de Ativação do Complemento
- Receptores para Proteínas do Complemento
- Regulação da Ativação do Complemento
- Funções do Complemento
- Deficiências do Complemento
- Efeitos Patológicos do Sistema Complemento
- Evasão do Complemento por Microrganismos

IMUNIDADE NEONATAL

RESUMO

A imunidade humoral é mediada por anticorpos secretados, e sua função fisiológica é a defesa contra microrganismos extracelulares e toxinas microbianas. Esse tipo de imunidade contrasta com a imunidade mediada por células, o outro braço efetor do sistema imune adaptativo, mediado por linfócitos T e que atua na erradicação de microrganismos que infectam e vivem no interior das células hospedeiras (Capítulos 10 e 11). A imunidade humoral é a forma de imunidade adaptativa que pode ser transferida de indivíduos imunizados para indivíduos *naive* por meio do soro que contém anticorpos. Os

tipos de microrganismos combatidos pela imunidade humoral são as bactérias extracelulares, fungos e até microrganismos intracelulares, como vírus, que são alvos de anticorpos antes de infectarem as células ou quando liberados a partir de células infectadas. Defeitos na produção de anticorpos resultam em suscetibilidade aumentada a infecções por muitos microrganismos, incluindo bactérias, fungos e vírus. As vacinas atualmente em uso induzem proteção primariamente por estimularem a produção de anticorpos (Tabela 13.1). Além de seus papéis protetores essenciais, os anticorpos podem ser perigosos e mediar lesão tecidual em indivíduos alérgicos, em determinadas doenças autoimunes, em reações à transfusão sanguínea e na rejeição de transplantes. Neste capítulo, discutiremos os mecanismos efetores utilizados pelos anticorpos para eliminar antígenos. A estrutura dos anticorpos é descrita no Capítulo 5, e o processo de produção de anticorpos, no Capítulo 12.

Tabela 13.1

Imunidade Humoral Induzida por Vacinas

Doença Infecciosa	Vacina	Mecanismo de Imunidade Protetora
Pólio	Poliovírus inativado injetável (Salk) e poliovírus atenuado oral (Sabin)	Neutralização do vírus por anticorpos IgG ou IgA de mucosa
Tétano, difteria	Toxoides	Neutralização da toxina por anticorpo IgG sistêmico
Hepatite A ou B	Proteínas recombinantes do envelope viral	Neutralização do vírus por anticorpo IgA de mucosa ou IgG sistêmico
Pneumonia pneumocócica, *Haemophilus influenzae*, *Neiseria meningitidis*	Vacinas conjugadas compostas por polissacarídeo da cápsula bacteriana ligado a proteína carreadora	Opsonização e fagocitose mediadas por anticorpos IgM e IgG, diretamente ou secundariamente a ativação do complemento

São listados exemplos selecionados de vacinas que funcionam por estimulação da imunidade humoral protetora.

Visão Geral da Imunidade Humoral

Antes de discutirmos os principais mecanismos pelos quais os anticorpos proporcionam proteção contra os microrganismos, resumiremos algumas das características mais importantes da defesa do hospedeiro mediada por anticorpos.

As principais funções dos anticorpos são neutralizar e eliminar os microrganismos infecciosos e as toxinas microbianas (Fig. 13.1). Como veremos adiante, a eliminação de antígenos mediada por anticorpos envolve diversos mecanismos efetores e requer a participação de várias células e proteínas secretadas do sistema imune, incluindo fagócitos e proteínas do sistema complemento.

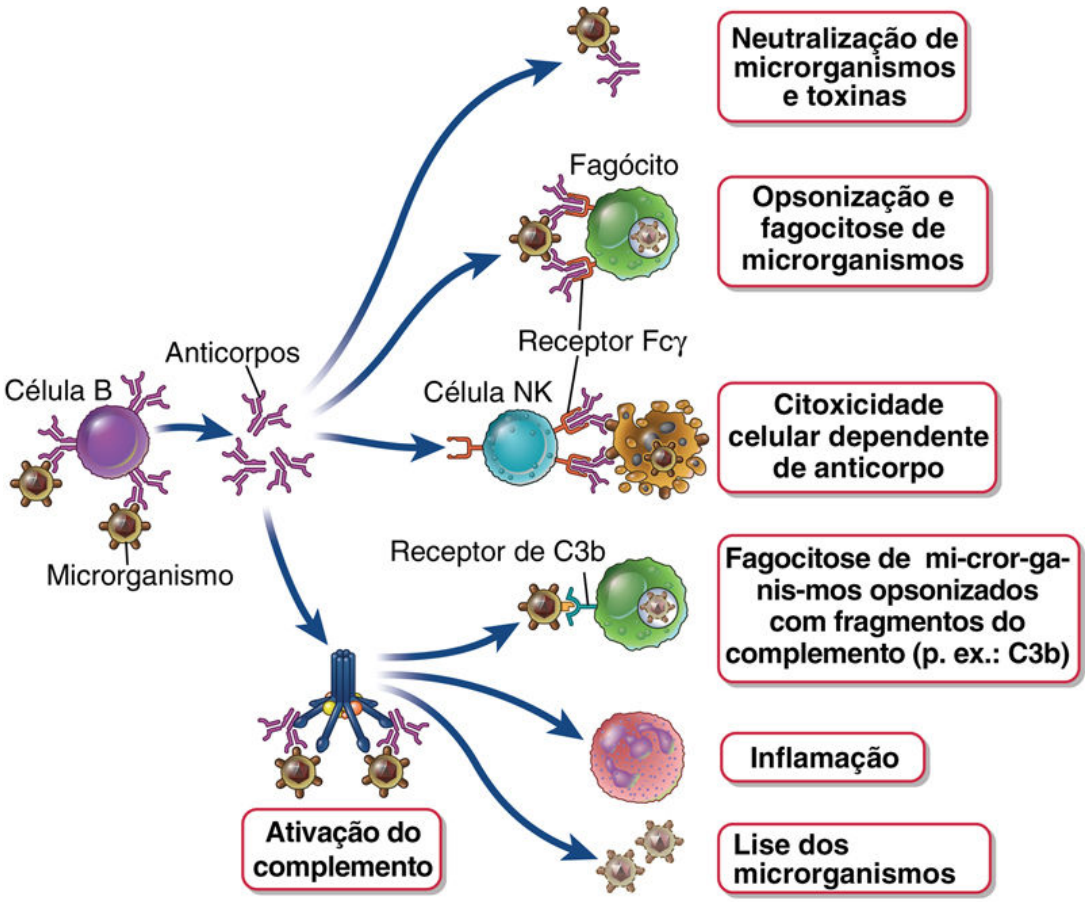


FIGURA 13.1 Funções efetoras dos anticorpos.
Anticorpos contra microrganismos (e suas toxinas, não mostrado) neutralizam esses agentes, opsonizam-nos para a fagocitose, sensibilizam-nos para o processo de citotoxicidade celular dependente de anticorpo e ativam o sistema complemento. Essas diversas funções efetoras podem ser mediadas por diferentes isotipos de anticorpos.

Os anticorpos são produzidos por plasmócitos nos órgãos linfoides periféricos (secundários), nos tecidos inflamados e na medula óssea, e realizam suas funções efetoras em locais distantes de onde são produzidos. Os anticorpos produzidos nos linfonodos, no baço e na medula óssea podem entrar no sangue e, então, circular por todo o corpo. Em órgãos de mucosa, como o intestino e as vias respiratórias, os anticorpos são produzidos na lâmina própria e transportados através dos epitélios para o lúmen desses órgãos, onde bloqueiam a entrada de microrganismos ingeridos ou inalados (Capítulo 14). Os anticorpos também são ativamente transportados através da placenta para a circulação do feto em desenvolvimento. Em estados de doença, os anticorpos podem ser produzidos em tecidos periféricos não linfoides, em sítios de infecção ou de inflamação crônica, algumas vezes chamados de órgões linfoides terciários. Os anticorpos que medeiam a imunidade protetora podem ser derivados de plasmócitos produtores de anticorpos de vida curta ou de vida

longa. Os plasmóticos de vida longa residem principalmente na medula óssea. Na imunidade mediada por células, linfócitos T ativados são capazes de migrar para sítios periféricos de infecção e inflamação, mas não são transportados para as secreções de mucosa ou através da placenta. Portanto, os anticorpos representam o principal mecanismo de defesa do hospedeiro para combater microrganismos no lúmen de órgãos de mucosa, em fetos e em recém-nascidos.

Muitas funções efetoras dos anticorpos são mediadas pelas regiões Fc das moléculas de imunoglobulina (Ig), e os diferentes isotipos de cadeia pesada de Ig têm funções efetoras distintas (Tabela 13.2). Por exemplo, algumas subclasses de IgG (IgG1 e IgG3) se ligam aos receptores Fc de fagócitos e promovem a fagocitose de partículas recobertas por anticorpo; a IgM e algumas subclasses de IgG (IgG1, IgG2 de maneira limitada, IgG3, mas não IgG4) ativam o sistema complemento; e a IgE liga-se aos receptores Fc de mastócitos e desencadeia sua ativação. Cada um desses mecanismos efetores será discutido posteriormente neste capítulo. O sistema imune humoral é especializado de tal maneira que diferentes exposições a microrganismos ou antígenos estimulam a troca de isotipo nas células B para aquele que seja mais eficiente no combate a esses agentes. O principal estímulo para a troca de isotipo durante o processo de ativação das células B são as citocinas, em conjunto com o ligante de CD40 expresso pelas células T auxiliares ativadas (Capítulo 12). A neutralização é a única função dos anticorpos mediada inteiramente pela ligação ao antígeno e não requer a participação das regiões constantes da Ig.

Tabela 13.2

Funções dos Isotipos de Anticorpos

Isótipo de Anticorpo	Funções Efetoras Isotipo-Específicas
IgG	Opsonização de antígenos para fagocitose por macrófagos e neutrófilos Ativação da via clássica do complemento Citoxicidade celular dependente de anticorpos mediada por células *natural killer* Imunidade neonatal: transferência de anticorpos maternos através da placenta e do intestino Inibição da ativação da célula B por *feedback* de anticorpo Neutralização de microrganismos e toxinas
IgM	Ativação da via clássica do complemento
IgA	Imunidade de mucosa: secreção de IgA para o lúmen dos tratos gastrointestinal e respiratório Neutralização de microrganismos e toxinas no lúmen de órgãos de mucosa
IgE	Desgranulação de mastócitos (reação de hipersensibilidade imediata) Defesa contra helmintos mediada por eosinófilos

As funções efetoras dos anticorpos mediadas pelas regiões Fc são desencadeadas pela ligação dos antígenos às regiões variáveis. A ligação dos

anticorpos a um antígeno multivalente, como um polissacarídeo ou um epítopo repetido sobre uma superfície microbiana, aproxima múltiplas moléculas de anticorpo, e o agrupamento dessas moléculas leva à ativação do complemento e permite que os anticorpos se liguem a receptores Fc em fagócitos, ativando-os. A obrigatoriedade da ligação ao antígeno assegura que os anticorpos ativem diversos mecanismos efetores somente quando são necessários, ou seja, quando os anticorpos encontram e se ligam especificamente aos antígenos, mas não quando os anticorpos estão circulando em uma forma livre de antígenos.

Com essa introdução à imunidade humoral, procederemos com a discussão das diversas funções dos anticorpos na defesa do hospedeiro.

Neutralização de Microrganismos e Toxinas Microbianas

Os anticorpos contra microrganismos e toxinas microbianas bloqueiam a ligação desses agentes e suas toxinas aos receptores celulares (Fig. 13.2). Dessa maneira, os anticorpos inibem, ou neutralizam, a infectividade de microrganismos, bem como os potenciais efeitos nocivos das toxinas microbianas. Muitos microrganismos penetram nas células hospedeiras por meio da ligação de determinadas moléculas da superfície microbiana às proteínas ou lipídeos da membrana presentes na superfície das células hospedeiras. Por exemplo, os vírus influenza usam a hemaglutinina de seu envelope para infectar as células epiteliais respiratórias, e as bactérias Gram-negativas utilizam seus *pili* (fímbrias) para aderir e infectar uma variedade de células hospedeiras. Os anticorpos que se ligam a essas estruturas microbianas interferem na capacidade dos microrganismos de interagir com os receptores celulares por meio de bloqueio estereoquímico e podem, assim, prevenir a infecção. Muitas toxinas microbianas também medeiam seus efeitos patológicos pela ligação a receptores celulares específicos. Por exemplo, a toxina tetânica se liga a receptores na placa motora terminal das junções neuromusculares e inibe a transmissão neuromuscular, provocando paralisia, enquanto a toxina diftérica se liga a receptores celulares e entra em várias células, onde inibe a síntese proteica. Anticorpos contra tais toxinas impedem estereoquimicamente as interações das toxinas com as células hospedeiras e, assim, evitam que as toxinas produzam lesão e doença. A neutralização pode ocorrer de múltiplas formas, que vão além da interferência estérica. Por exemplo, no lúmen do intestino, a agregação ou aglutinação de microrganismos por anticorpos IgA pode reduzir sua infectividade, aprisioná-los no muco e facilitar sua eliminação pelo peristaltismo. Em alguns casos, os anticorpos podem se ligar a um microrganismo e induzir alterações conformacionais em moléculas de superfície que impedem a interação do microrganismo com receptores celulares. Tais interações foram observadas em anticorpos contra certos vírus e são exemplos dos efeitos alostéricos dos anticorpos.

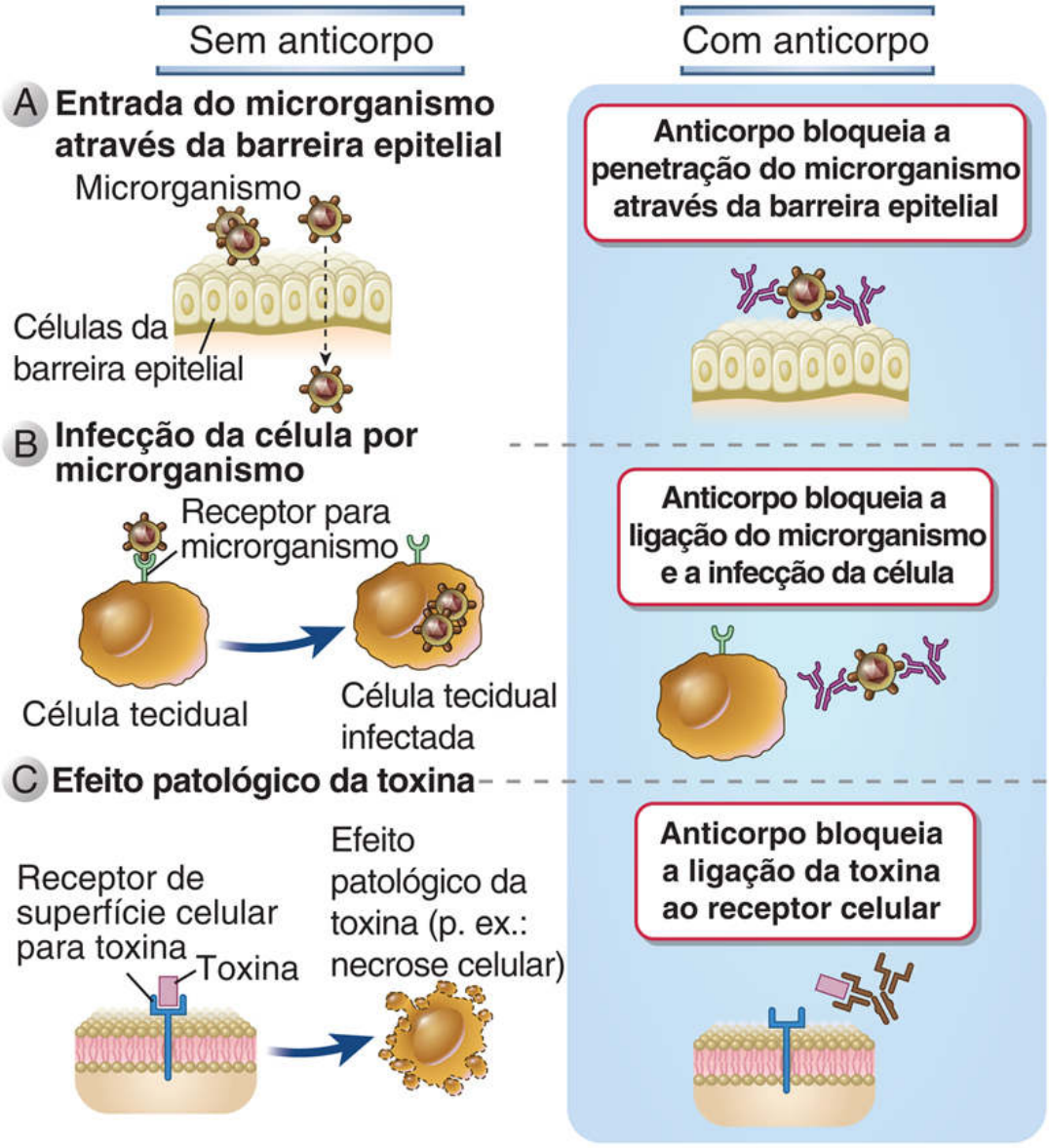


FIGURA 13.2 Neutralização de microrganismos e toxinas por anticorpos.
A, Os anticorpos impedem a ligação de microrganismos a células e, assim, bloqueiam a capacidade desses agentes de infectarem as células hospedeiras. **B,** Os anticorpos inibem a disseminação dos microrganismos de uma célula infectada para uma célula adjacente não infectada. **C,** Os anticorpos bloqueiam a ligação de toxinas a células e, assim, inibem os efeitos patológicos das toxinas.

A neutralização de microrganismos e toxinas mediada por anticorpos requer apenas as regiões de ligação ao antígeno desses anticorpos. Portanto, a neutralização pode ser mediada por anticorpos de qualquer isotipo presentes na circulação e nas secreções de mucosa, como também ser experimental e terapeuticamente mediada por fragmentos Fab ou $F(ab)_2$ de anticorpos

específicos, os quais não têm as regiões Fc das cadeias pesadas. Os anticorpos neutralizantes no sangue são principalmente do isotipo IgG; em sítios de mucosa, o principal isotipo é IgA. Os anticorpos neutralizantes mais eficazes são aqueles com alta afinidade para seus antígenos. Os anticorpos de alta afinidade são produzidos pelo processo de maturação de afinidade (Capítulo 12). Muitas vacinas profiláticas funcionam estimulando a produção de anticorpos neutralizantes de alta afinidade (Tabela 13.1). Um mecanismo que os microrganismos desenvolveram para escapar da imunidade do hospedeiro é a mutação de genes que codificam antígenos de superfície, que são alvo dos anticorpos neutralizantes (Capítulo 16).

Opsonização e Fagocitose Mediadas por Anticorpos

Os anticorpos do isotipo IgG recobrem (opsonizam) os microrganismos e promovem sua fagocitose pela ligação a receptores Fc nos fagócitos. Os fagócitos mononucleares e os neutrófilos ingerem os microrganismos como um prelúdio para o *killing* e degradação intracelular. Esses fagócitos expressam uma variedade de receptores de superfície que se ligam diretamente aos microrganismos e os internalizam, mesmo na ausência de anticorpos, proporcionando um mecanismo da imunidade inata (Capítulo 4). A eficiência desse processo pode ser aumentada acentuadamente se o fagócito puder se ligar à partícula com alta afinidade. Os fagócitos mononucleares e os neutrófilos expressam receptores para as porções Fc dos anticorpos IgG que se ligam especificamente a partículas recobertas por anticorpos. Os microrganismos também podem ser cobertos por um produto da ativação do complemento denominado C3b e são então fagocitados pela ligação a um receptor leucocitário de C3b (descrito mais adiante neste capítulo). Como discutido no Capítulo 4, o processo de cobertura de partículas para promover sua fagocitose é denominado **opsonização,** e as substâncias que realizam essa função, incluindo anticorpos e proteínas do complemento, são chamadas **opsoninas**.

Receptores Fc em Leucócitos

Os leucócitos expressam receptores Fc que se ligam às regiões constantes dos anticorpos e, assim, promovem a fagocitose de partículas recobertas por Ig e liberam sinais que regulam as atividades dos leucócitos; outros receptores Fc medeiam o transporte de anticorpos para diversos locais. Os receptores Fc para diferentes isotipos de cadeia pesada são expressos em muitas populações leucocitárias e apresentam diversas funções na imunidade. Dentre esses receptores Fc, os mais importantes para a fagocitose de partículas opsonizadas são os receptores para as cadeias pesadas de anticorpos IgG, chamados receptores Fcγ, e estes serão os receptores primariamente considerados neste capítulo. No Capítulo 20, discutiremos os receptores Fc que se ligam a IgE. No Capítulo 5, descreveremos o receptor Fc neonatal (FcRn), expresso na placenta, no endotélio vascular e em outros tipos celulares, que tem funções únicas relacionadas ao transporte de IgG através da placenta e a proteção desse isotipo do *turnover* de anticorpos. No Capítulo 14, abordaremos o receptor de poli-Ig, envolvido no transporte, principalmente de IgA, através do epitélio de mucosa.

Os receptores Fcγ foram classificados em três grupos, com base em suas afinidades para as cadeias pesadas de diferentes subclasses de IgG. Diferentes receptores Fc também são expressos em distintos tipos celulares (Tabela 13.3).

Em geral, os imunocomplexos contendo IgG1 e IgG3 se ligam eficientemente a receptores Fc de ativação, enquanto os imunocomplexos contendo IgG2 não se ligam bem. A IgG4 tem uma afinidade muito baixa para os receptores Fc de ativação, e a função biológica desse isotipo de anticorpo não é muito bem compreendida. O engajamento da maior parte dos receptores Fc resulta em ativação celular, exceto a do FcγRIIB, que é um receptor de inibição. Todos os receptores Fcγ contêm uma cadeia de ligação ao ligante, denominada cadeia α, que reconhece as cadeias pesadas de IgG. As diferenças de especificidade ou afinidade de cada FcγR para os diversos isotipos de IgG baseiam-se em distinções da estrutura dessas cadeias α. Todos os receptores Fc são ativados de forma ideal por anticorpos ligados aos seus antígenos e não quando estão na forma livre, circulante. Em todos os FcRs, exceto o FcγRII, a cadeia α está associada a uma ou mais cadeias polipeptídicas adicionais envolvidas na transdução de sinal (Fig. 13.3). As funções de sinalização do FcγRII são mediadas pela cauda citoplasmática desse receptor de cadeia única.

Tabela 13.3

Receptores Fc

FcR	Afinidade para Imunoglobulinas	Distribuição Celular	Função
FcγRI (CD64)	Alta ($K_d \sim 10^{-9}$ M); liga-se a IgG1 e IgG3, pode ligar-se a IgG monomérica	Macrófagos, neutrófilos; também eosinófilos	Fagocitose; ativação de fagócitos
FcγRIIA (CD32)	Baixa ($K_d \sim 10^{-7}$ M)	Macrófagos, neutrófilos, células dendríticas, eosinófilos, plaquetas	Fagocitose; ativação celular
FcγRIIB (CD32)	Baixa ($K_d \sim 10^{-7}$ M)	Linfócitos B, macrófagos, células dendríticas, outras células	Inibição por *feedback* de diversas respostas celulares
FcγRIIC (CD32)	Baixa ($K_d \sim 10^{-7}$ M)	Macrófagos, neutrófilos, células NK	Fagocitose, ativação celular
FcγRIIIA (CD16)	Baixa ($K_d \sim 10^{-6}$ M)	Células NK, macrófagos, células dendríticas	Citoxicidade celular dependente de anticorpo
FcγRIIIB (CD16)	Baixa ($K_d \sim 10^{-6}$ M); proteína ligada a GPI	Neutrófilos	Fagocitose (ineficiente)
FcεRI	Alta ($K_d \sim 10^{-10}$ M); liga-se a IgE monomérica	Mastócitos, basófilos, eosinófilos	Ativação celular (desgranulação)
FcεRII (CD23)	Baixa ($K_d \sim 10^{-7}$ M)	Linfócitos B, eosinófilos, células de Langerhans	Desconhecida
FcαR (CD89)	Baixa ($K_d \sim 10^{-6}$ M)	Neutrófilos, eosinófilos, monócitos	Ativação celular?

Os três grupos de receptores Fcγ são numerados I, II e III, e as isoformas de dois deles são denominadas de A, B e C. *GPI*, Glicofosfatidilinositol; *NK*, *natural killer*.

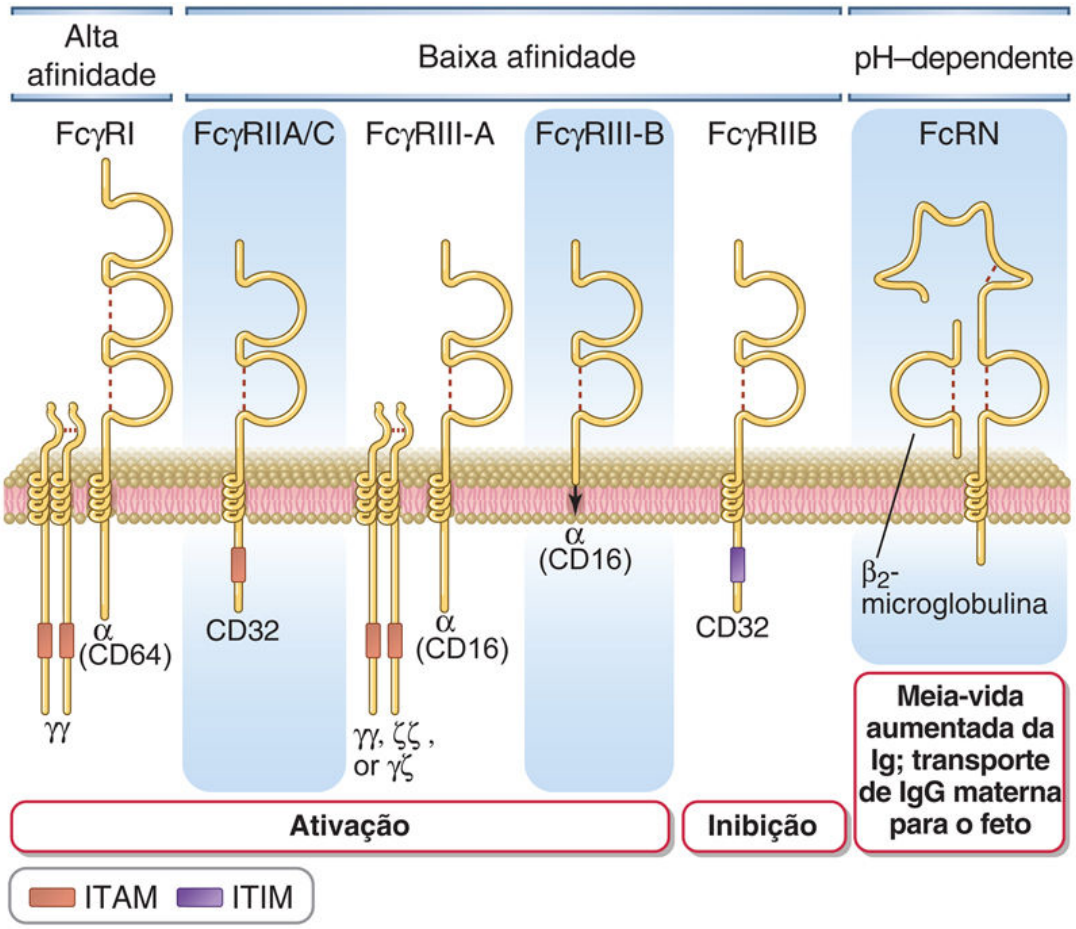


FIGURA 13.3 Composição das subunidades dos receptores Fcγ. Modelos esquemáticos dos diferentes receptores Fc humanos ilustram as cadeias α de ligação ao Fc e as subunidades de sinalização. O FcγRIII-B é um proteína de membrana ancorada a glicofosfatidilinositol (GPI), sem funções de sinalização conhecidas. O FcγRIIA e IIC são receptores de ativação de baixa afinidade estruturalmente semelhantes com padrões de expressão ligeiramente diferentes. Note que embora o FcγRIIA/C e o FcγRIIB sejam ambos designados CD32, representam diferentes proteínas com funções distintas (ver texto). O FcR neonatal (FcRn) assemelha-se estruturalmente a moléculas do complexo principal de histocompatibilidade de classe I, mas não tem uma fenda de ligação ao peptídeo.

Há três grupos principais de receptores Fc IgG-específicos, sendo que dois grupos têm múltiplas isoformas que diferem entre si em estrutura e função (Tabela 13.3), e são descritos a seguir. O FcRn tem funções exclusivas relacionadas ao transporte de IgG através da placenta e a proteção desse isotipo do *turnover*, conforme discutido no Capítulo 5.

- ***FcγRI*** (CD64): é o principal receptor Fcγ em fagócitos. É expresso em macrófagos e neutrófilos e liga-se a IgG1 e IgG3 com alta afinidade

(constante de dissociação [K_d] de 10^{-8} a 10^{-9} M). (Em camundongos, o FcγRI se liga preferencialmente a anticorpos IgG2a e IgG2b/2c.) A longa região aminoterminal extracelular da cadeia α que se liga a Fc dobra-se em três domínios do tipo Ig em tandem. A cadeia α do FcγRI está associada a um homodímero ligado por dissulfeto de uma proteína de sinalização chamada cadeia γ do FcR. Essa cadeia γ é também encontrada nos complexos de sinalização associados a FcγRIII, FcαR e FcεRI. A cadeia γ tem uma região extracelular aminoterminal curta apenas, mas sua região citoplasmática carboxiterminal é longa e estruturalmente homóloga à cadeia ζ do complexo receptor de células T (TCR, do inglês, *T cell receptor*). Assim como a cadeia ζ do TCR, a cadeia γ do FcR contém um motivo de ativação com base na tirosina do imunorreceptor (ITAM, do inglês, *immunoreceptor tyrosine-based activation motif*) que faz o pareamento dos receptores agrupados para ativar as tirosinas quinases proteicas. A ligação cruzada de diversas moléculas de IgG ligadas a receptores Fc por antígenos multivalentes resulta na ativação celular.

- ***FcγRII*** (CD32): em humanos, liga-se a IgG1 e IgG3 com uma afinidade baixa (K_d 10^{-6} M). A duplicação e a diversificação gênica resultaram na geração de três formas desse receptor, chamadas FcγRII A, B e C. Essas isoformas têm domínios extracelulares e especificidades ao ligante semelhantes, mas diferem na estrutura da cauda citoplasmática, na distribuição celular e nas funções. O FcγRIIA é expresso pelos neutrófilos, fagócitos mononucleares e células dendríticas, e participa da fagocitose de partículas opsonizadas, enquanto o FcγRIIC é expresso em fagócitos mononucleares, neutrófilos e células *natural killer* (NK). As caudas citoplasmáticas do FcγRIIA e do FcγRIIC contêm ITAMs e podem transmitir um sinal de ativação a fagócitos quando há agrupamento de partículas ou células recobertas por IgG1 ou IgG3. Nas células dendríticas, esse receptor pode contribuir para a captura de antígenos e consequentemente ativação das células T. O FcγRIIB é um receptor de inibição expresso em células mieloides e em células B, sendo o único receptor Fc em células B. Seu papel no *feedback* por anticorpos é descrito no Capítulo 12.
- ***FcγRIII*** (CD16): é também um receptor de baixa afinidade para a IgG. A porção extracelular de ligação ao ligante do FcγRIII é semelhante à do FcγRII em termos de estrutura, afinidade e especificidade para IgG. Esse receptor existe em duas formas, codificadas por genes separados. A isoforma FcγRIIIA é uma proteína transmembrana expressa principalmente em células NK, mas também em macrófagos e células dendríticas. O FcγRIIIA associa-se a homodímeros da cadeia γ do FcR, homodímeros da cadeia ζ do TCR, ou heterodímeros compostos pela

cadeia γ do FcR e uma cadeia ζ. Essas cadeias associadas contêm ITAMs que transmitem sinais de ativação após a ligação do anticorpo aos receptores Fc e são, dessa forma, necessários para as funções dos receptores. A isoforma FcγRIIIB é uma proteína ligada a glicofosfatidilinositol (GPI, do inglês, *glycophosphatidylinositol*) expressa em neutrófilos; não medeia a fagocitose ou dispara a ativação de neutrófilos, e sua função não é bem compreendida.

Além desses receptores Fcγ, há receptores para as cadeias pesada de IgE e IgA (Tabela 13.3). Descreveremos o FcεRI no Capítulo 20. A função do FcαR não está bem estabelecida.

Papel dos Receptores Fcγ na Fagocitose e Ativação de Fagócitos

A ligação dos receptores Fc presentes em fagócitos a partículas multivalentes recobertas por anticorpo leva à internalização dessas partículas e à ativação dos fagócitos (Fig. 13.4). Os subtipos de IgG que melhor se ligam a esses receptores (IgG1 e IgG3) são as opsoninas mais eficientes para promover a fagocitose. Como discutido anteriormente, o FcγRI é o receptor Fcγ de alta afinidade das células fagocíticas, sendo o receptor mais importante para a fagocitose de partículas opsonizadas.

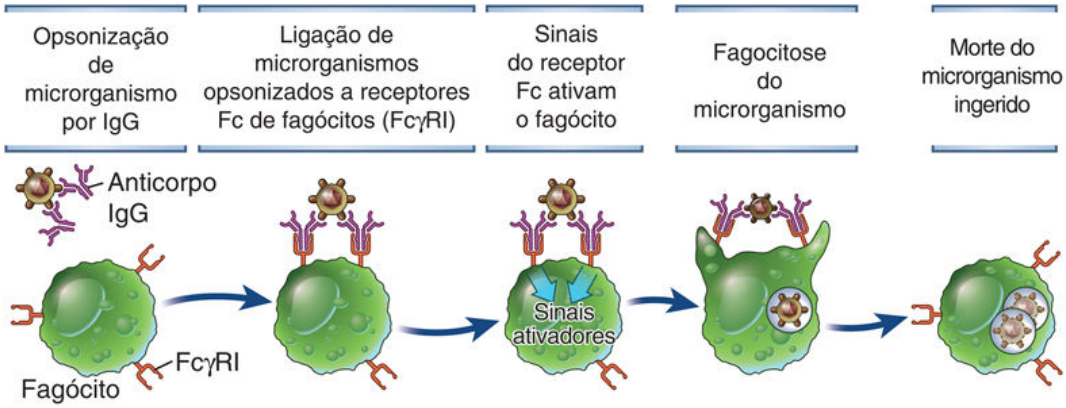


FIGURA 13.4 Opsonização e fagocitose de microrganismos mediadas por anticorpo.
Anticorpos de determinadas subclasses de IgG ligam-se a microrganismos e são então reconhecidos por receptores Fc em fagócitos. Os sinais dos receptores Fc promovem a fagocitose dos microrganismos opsonizados e ativam os fagócitos para destruir esses microrganismos. Os mecanismos microbicidas dos fagócitos estão descritos nos Capítulos 4 (Fig. 4.13) e 10 (Fig. 10.7).

As partículas opsonizadas são internalizadas em vesículas conhecidas como fagossomos, as quais se fundem aos lisossomos, e são destruídas nesses fagolisossomos. A ativação requer a ligação cruzada dos FcRs por várias moléculas de Ig adjacentes (p. ex.: em microrganismos recobertos com anticorpos ou em imunocomplexos). A ligação cruzada das cadeias α de ligação ao ligante de um FcR resulta em eventos de transdução de sinal semelhantes aos que ocorrem após a ligação cruzada do receptor antigênico em linfócitos (Capítulo 7). Esses eventos incluem a fosforilação de tirosinas dos ITAMs mediada por quinases Src nas cadeias de sinalização dos FcRs; o recrutamento de quinases da família Syk aos ITAMs mediado pelo domínio SH2; a ativação da fosfatidilinositol 3 quinase; o recrutamento de moléculas adaptadoras, incluindo SLP-76 e BLNK; e o recrutamento de enzimas como fosfolipase Cγ e quinases da família Tec. Esses eventos levam à geração de inositol trifosfato e diacilglicerol, e ao aumento sustentado de cálcio citosólico.

As vias de sinalização *downstream* dos receptores Fcγ induzem inúmeras respostas nos leucócitos, incluindo a transcrição de genes que codificam citocinas, mediadores inflamatórios e enzimas microbicidas, além da mobilização do citoesqueleto levando à fagocitose, exocitose de grânulos e migração celular. As principais substâncias microbicidas produzidas pelos fagócitos ativados são as espécies reativas de oxigênio, óxido nítrico e enzimas hidrolíticas. Essas são as mesmas substâncias produzidas pelos fagócitos ativados nas respostas imunes inatas, discutidas no Capítulo 4. As mesmas substâncias microbicidas podem danificar os tecidos; o mecanismo de lesão tecidual mediada por anticorpos é importante nas doenças de hipersensibilidade (Capítulo 19). Camundongos *knockout* deficientes da cadeia α de ligação ao ligante do FcγRI, ou da cadeia γ transdutora de sinal do FcR, apresentam defeitos na defesa contra microrganismos mediada por anticorpos e não desenvolvem algumas formas de lesão tecidual mediada por anticorpo IgG, demonstrando, dessa maneira, o papel essencial dos receptores Fc nesses processos.

Sinalização de Inibição pelo Receptor FcγRIIB

O receptor FcγRIIB é um receptor Fc de inibição descrito anteriormente no contexto da sinalização de inibição em células B e do fenômeno de *feedback* por anticorpo (Capítulo 12). O FcγRIIB também é expresso em células dendríticas, neutrófilos, macrófagos e mastócitos, e pode exercer um papel na regulação das respostas dessas células seguidas da ativação de receptores Fc e de outros estímulos. Um tratamento de certa forma empírico, mas frequentemente útil, de muitas doenças autoimunes é a administração intravenosa de uma mistura de IgG humana, chamada imunoglobulina intravenosa (IVIG, do inglês, *intravenous immunoglobulin*). A IVIG pode aumentar a expressão de FcγRIIB e também se ligar a esse receptor, fornecendo sinais inibidores aos linfócitos B e

células mieloides, assim reduzindo a produção de anticorpos e abrandando a inflamação.

Citotoxicidade Celular Dependente de Anticorpo

As células NK e outros leucócitos ligam-se a células recobertas por anticorpo por meio dos receptores Fc, e as destroem. Esse processo é chamado de citotoxicidade celular dependente de anticorpos (CCDA) (Fig. 13.5). Foi descrito pela primeira vez como uma função das células NK, as quais utilizam seu receptor Fc, FcγRIIIA, para se ligar a células recobertas por anticorpo. O FcγRIIIA (CD16) é um receptor de baixa afinidade que se liga a moléculas de IgG agregadas, exibidas em superfícies celulares, mas não se liga a moléculas de IgG monoméricas circulantes. Portanto, a CCDA ocorre somente quando a célula-alvo está recoberta por moléculas de anticorpo, enquanto a IgG livre no plasma não ativa as células NK nem compete eficientemente com a IgG ligada às células pela ligação ao FcγRIII. O acoplamento do FcγRIII a células-alvo recobertas por anticorpo ativa as células NK para que elas sintetizem e secretem citocinas, como o IFN-γ, além de descarregar o conteúdo dos seus grânulos, os quais medeiam as funções de *killing* desse tipo celular (Capítulo 4). A CCDA também pode ser mediada por macrófagos.

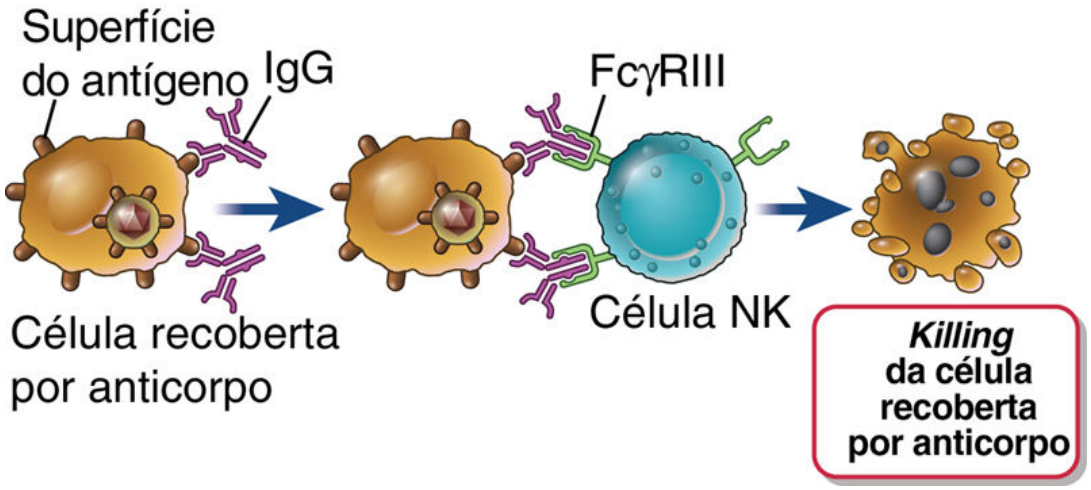


FIGURA 13.5 Citotoxicidade celular dependente de anticorpo. Os anticorpos de determinadas subclasses de IgG ligam-se a células (p. ex.: células infectadas), e as regiões Fc dos anticorpos ligados são reconhecidas por um receptor Fcγ em células NK. As células NK são ativadas e matam as células recobertas por anticorpo.

A CCDA pode ser prontamente demonstrada *in vitro*, mas seu papel na defesa do hospedeiro contra os microrganismos não está estabelecido. É provável que seja um mecanismo importante para a eliminação de células

recobertas por determinados anticorpos monoclonais terapêuticos, como as células B e as células tumorais derivadas de células B que são alvos do anticorpo anti-CD20.

Eliminação de Helmintos Mediada por Anticorpo

Anticorpos, eosinófilos e mastócitos atuam conjuntamente para mediar o* killing *e a expulsão de alguns parasitas helmínticos. Os helmintos (vermes) são muito grandes para serem internalizados pelos fagócitos, e seus tegumentos são relativamente resistentes aos produtos microbicidas dos neutrófilos e macrófagos. No entanto, estes parasitas podem ser mortos por uma proteína catiônica tóxica, conhecida como proteína básica principal, presente nos grânulos dos eosinófilos. Anticorpos IgE e, em menor extensão, IgG e IgA que recobrem os helmintos podem se ligar a receptores Fc em eosinófilos e causar a desgranulação dessas células, liberando a proteína básica e outros conteúdos dos grânulos de eosinófilos que matam os parasitas. O receptor Fcε de alta afinidade (FcεRI) presente em eosinófilos não tem a cadeia β de sinalização e pode sinalizar apenas por meio da cadeia γ associada. Além de ativar eosinófilos, os anticorpos IgE que reconhecem antígenos na superfície dos helmintos podem iniciar a desgranulação local dos mastócitos por meio do receptor de alta afinidade para IgE (Capítulo 20). Os mediadores dos mastócitos podem induzir broncoconstricção e aumento da motilidade intestinal, contribuindo para a expulsão de vermes de locais como as vias aéreas e o lúmen do trato gastrintestinal.

O Sistema Complemento

O sistema complemento é um dos principais mecanismos efetores da imunidade humoral e é também um importante mecanismo efetor da imunidade inata. Discutimos brevemente o papel do complemento na imunidade inata no Capítulo 4. Aqui, descreveremos a ativação e a regulação do complemento em mais detalhes.

O nome *complemento* é derivado de experimentos realizados por Jules Bordet logo após a descoberta de anticorpos. Ele demonstrou que se um soro fresco contendo anticorpo antibacteriano for adicionado a uma cultura de bactérias mantida a temperatura fisiológica (37 °C), as bactérias são lisadas. Se, no entanto, o soro for aquecido a 56 °C ou mais, ele perde sua capacidade lítica. Essa perda não se deve ao decaimento da atividade dos anticorpos, porque as moléculas são relativamente estáveis ao calor, e mesmo o soro aquecido é capaz de aglutinar bactérias. Bordet concluiu que o soro deve conter algum outro componente termolábil que auxilia, ou complementa, a função lítica dos anticorpos, e esse componente recebeu posteriormente o nome **complemento**.

O sistema complemento consiste em um conjunto de proteínas séricas e de superfície celular que interagem umas com as outras e com outras moléculas do sistema imune de maneira altamente regulada, para gerar produtos que atuam na eliminação dos microrganismos. As proteínas do complemento são proteínas plasmáticas normalmente inativas; elas são ativadas apenas em condições particulares para gerar produtos que medeiam várias funções efetoras. Diversas características de ativação do complemento são essenciais para sua função normal.

- ***O sistema complemento é ativado por microrganismos e por anticorpos que estão ligados aos microrganismos e outros antígenos.*** Dessa maneira, o complemento direciona o ataque imune às superfícies microbianas. Os mecanismos de ativação inicial serão descritos mais adiante.
- ***A ativação do complemento envolve a proteólise sequencial de proteínas para gerar complexos enzimáticos com atividade proteolítica.*** As proteínas que adquirem atividade enzimática proteolítica pela ação de outras proteases são chamadas zimógenos. O processo de ativação sequencial dos zimógenos, uma característica que define uma cascata enzimática proteolítica, também é característico dos sistemas de coagulação e das cininas. As cascatas proteolíticas permitem enorme e rápida amplificação porque cada molécula de enzima ativada em uma etapa pode gerar múltiplas moléculas de enzima ativada na etapa seguinte.

- ***Muitos produtos de clivagem biologicamente ativos resultantes da ativação do complemento se tornam covalentemente ligados às superfícies celulares microbianas, aos anticorpos ligados a microrganismos e outros antígenos, e aos corpos apoptóticos.*** As proteínas do complemento são inativas ou apenas transientemente ativas (por segundos) em fase fluida, mas se tornam ativadas de maneira estável uma vez que estejam ligadas a microrganismos, anticorpos ou células em processo de morte. Assim, a ativação completa e, consequentemente, as funções biológicas do sistema complemento, são limitadas às superfícies celulares microbianas ou a sítios dos anticorpos ligados aos antígenos, mas não ocorrem no sangue.
- ***Os subprodutos da ativação do complemento estimulam reações inflamatórias.*** O recrutamento de neutrófilos e monócitos estabelece um ambiente inflamatório ao redor dos microrganismos que ajuda a eliminar os patógenos.
- ***A ativação do complemento é inibida por proteínas reguladoras que estão presentes em células normais do hospedeiro e ausentes nos microrganismos.*** As proteínas reguladoras são uma adaptação das células normais que minimizam os danos mediados pelo complemento às células hospedeiras. Como os microrganismos não possuem essas proteínas reguladoras, a ativação do complemento pode ocorrer nas superfícies microbianas.

Vias de Ativação do Complemento

Há três vias principais de ativação do complemento: a via clássica, ativada por determinados isotipos de anticorpos ligados a antígenos; a via alternativa, ativada na superfície das células microbianas na ausência de anticorpo; e a via das lectinas, ativada por uma proteína ligante de manose que se liga a carboidratos de superfície em microrganismos (Fig. 13.6). A nomenclatura "clássica" e "alternativa" surgiu porque a via clássica foi descoberta e caracterizada antes das demais, mas a via alternativa é filogeneticamente mais antiga. Embora as vias de ativação do complemento apresentem diferenças na forma como são iniciadas, todas resultam na clivagem da proteína mais abundante do complemento: C3. As vias alternativa e das lectinas representam mecanismos efetores da imunidade inata, ao passo que a via clássica representa um dos principais mecanismos de imunidade humoral adaptativa.

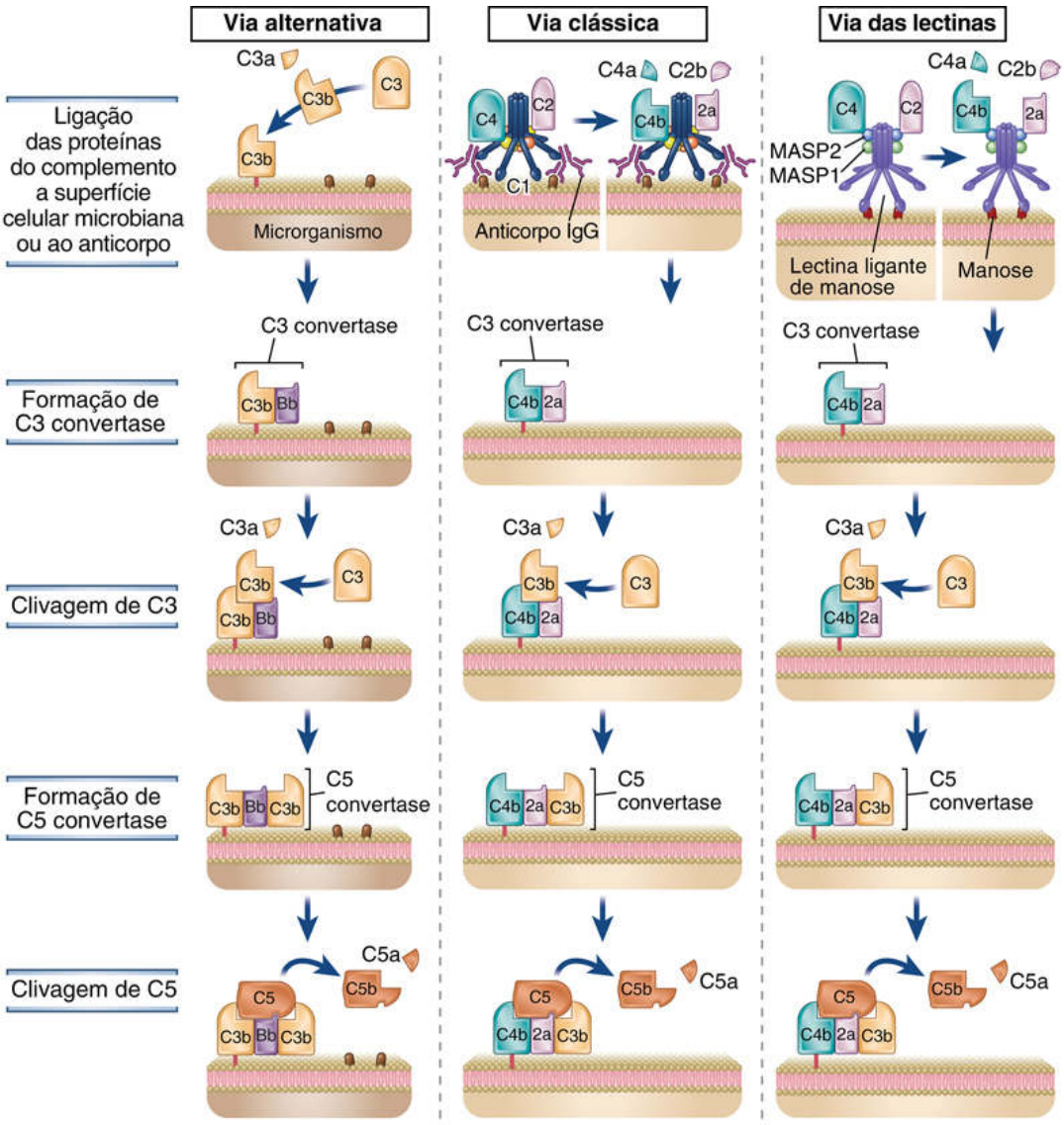


FIGURA 13.6 Etapas iniciais da ativação do complemento pelas vias alternativa, clássica e das lectinas.
A via alternativa é ativada pela ligação de C3b a diversas superfícies ativadoras, como as paredes celulares microbianas; a via clássica é iniciada pela ligação do C1 aos complexos antígeno-anticorpo; e a via das lectinas é ativada pela ligação de uma lectina plasmática a microrganismos. O C3b gerado pela ação da C3 convertase liga-se à superfície celular microbiana ou ao anticorpo e torna-se um componente da enzima que cliva C5 (C5 convertase) e inicia as etapas terminais da ativação do complemento. As etapas terminais de todas as três vias são as mesmas (não mostrado), e o complemento ativado por todas as três vias serve às mesmas funções.

O evento central na ativação do complemento é a proteólise da proteína C3 do complemento, que gera produtos biologicamente ativos, e a subsequente

ligação covalente de um produto de C3, denominado C3b, às superfícies celulares microbianas ou ao anticorpo ligado ao antígeno (Fig. 13.6). A ativação do complemento envolve a geração de um complexo proteolítico, a **convertase de C3** (ou **C3 convertase**), que cliva C3 em dois fragmentos denominados C3a e C3b. (Por convenção, os produtos proteolíticos de cada proteína do complemento são identificados por sufixos em letras minúsculas, sendo "a" referente ao produto menor, e "b" ao maior.) O C3b torna-se covalentemente ligado à superfície celular microbiana ou a moléculas de anticorpos ligadas ao antígeno. Todas as funções biológicas do complemento são dependentes da clivagem proteolítica de C3. Por exemplo, a ativação do complemento promove a fagocitose porque o C3b torna-se covalentemente ligado aos microrganismos e os fagócitos (neutrófilos e macrófagos) expressam receptores para C3b. Os peptídeos produzidos por proteólise de C3 (e de outras proteínas do complemento) estimulam a inflamação.

Em todas as três vias de ativação do complemento, após a geração de C3b pela C3 convertase, um segundo complexo enzimático chamado **convertase de C5** (ou **C5 convertase)** é montado, o qual cliva C5 em C5a e C5b. A C5 convertase contribui para a inflamação por meio da geração do fragmento C5a e para a formação de poros nas membranas dos alvos microbianos. As vias de ativação do complemento diferem na forma como o C3b é produzido, mas seguem uma sequência comum de reações após a clivagem de C5.

Com essa introdução, prosseguimos para uma descrição mais detalhada das vias alternativa, clássica e das lectinas.

A Via Alternativa

A via alternativa de ativação do complemento resulta na proteólise de C3 e na fixação estável de seu produto de degradação C3b nas superfícies microbianas, sem a participação de anticorpo (Fig. 13.7 e Tabela 13.4). Normalmente, o C3 está sendo continuamente clivado no plasma a uma taxa baixa (1 a 2% do total de C3 plasmático por hora) para gerar C3b em um processo chamado C3 *tickover*. A proteína C3 contém uma ligação de tioéster reativa que fica escondida em uma região da proteína conhecida como domínio tioéster. Quando o C3 é clivado, a molécula C3b sofre uma mudança conformacional dramática e o domínio tioéster é exteriorizado (um deslocamento maciço de cerca de 85 Å), expondo a ligação tioéster reativa anteriormente oculta. Uma pequena quantidade de C3b pode se tornar covalentemente ligada às superfícies das células, incluindo microrganismos, por meio do domínio tioéster, o qual reage com os grupos amino ou hidroxila de proteínas da superfície celular ou dos polissacarídeos para formar ligações amida ou éster (Fig. 13.8). Se essas ligações não forem formadas, o C3b permanece na fase fluida e a ligação tioéster reativa exposta é rapidamente hidrolisada, tornando a

proteína inativa. Como resultado, a ativação subsequente do complemento não pode continuar.

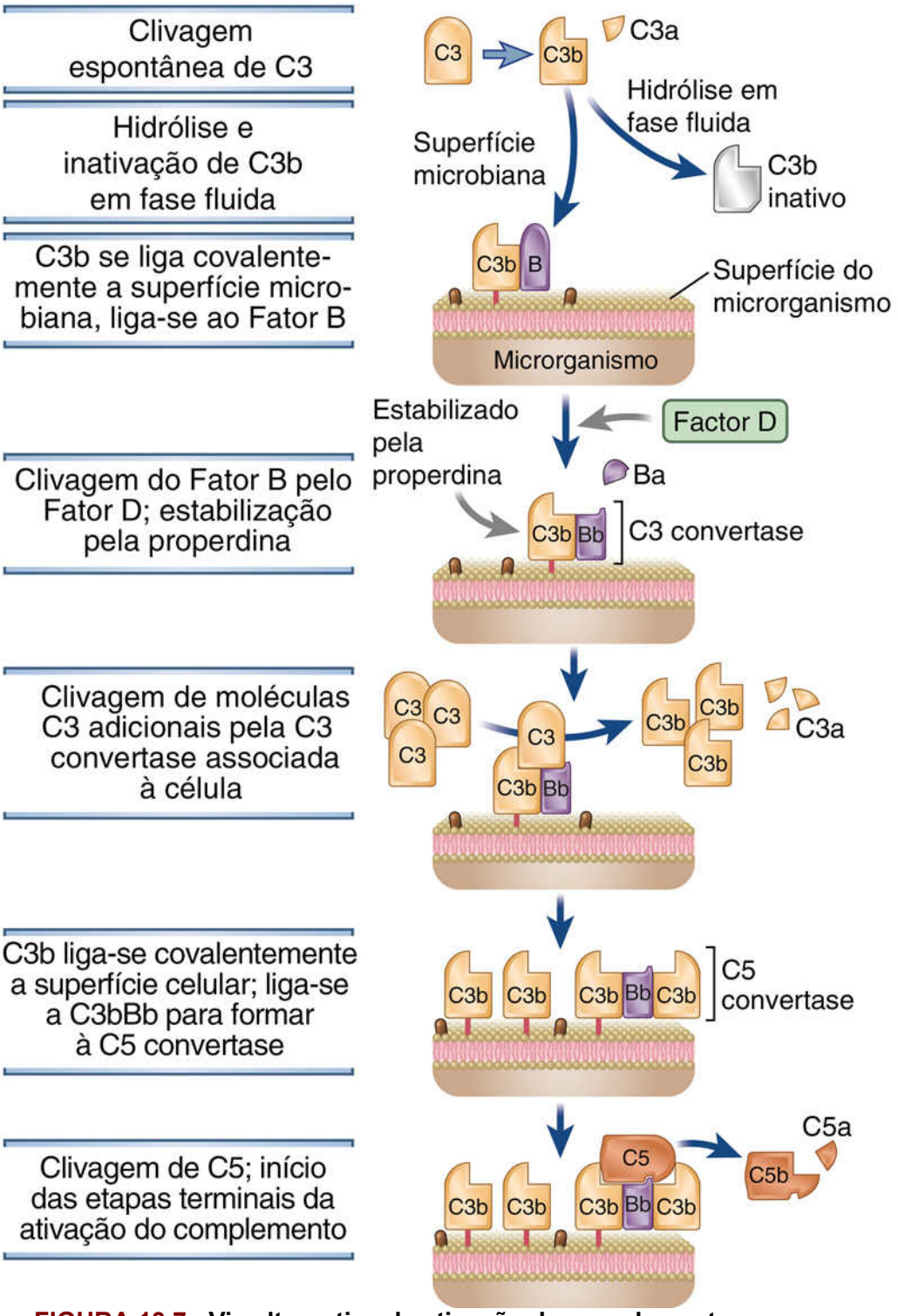


FIGURA 13.7 Via alternativa de ativação do complemento.
A hidrólise espôntanea do C3 plasmático leva à formação de uma C3 convertase de fase fluida (não mostrada) e à geração de C3b. Se for depositado sobre uma superfície microbiana, o C3b se liga ao Fator B e forma a C3 convertase da via alternativa. Essa convertase cliva C3 para produzir mais C3b, que se liga a superfícies microbianas e participa da

formação da C5 convertase. A C5 convertase cliva C5 para gerar C5b, o evento iniciador das etapas terminais de ativação do complemento.

Tabela 13.4

Proteínas da Via Alternativa do Complemento

Proteína	Estrutura	Concentração Sérica (μg/mL)	Função
C3	185 kDa (subunidade α, 110 kD; subunidade β, 75 kDa)	1.400-1.700	C3b liga-se à superfície do microrganismo, onde atua como uma opsonina e como um componente das C3- e C5 convertase. C3a estimula inflamação (anafilotoxina).
Fator B	Monômero de 93 kDa	200-400	Bb é uma serina protease e a enzima ativa de C3- e C5 convertase.
Fator D	Monômero de 25 kDa	1-3	Serina protease plasmática que cliva o fator B quando está ligado a C3b.
Properdina	Composta por até 4 subunidades de 56 kDa	20-35	A properdina estabiliza as C3 convertases (C3bBb) na superfície microbiana.

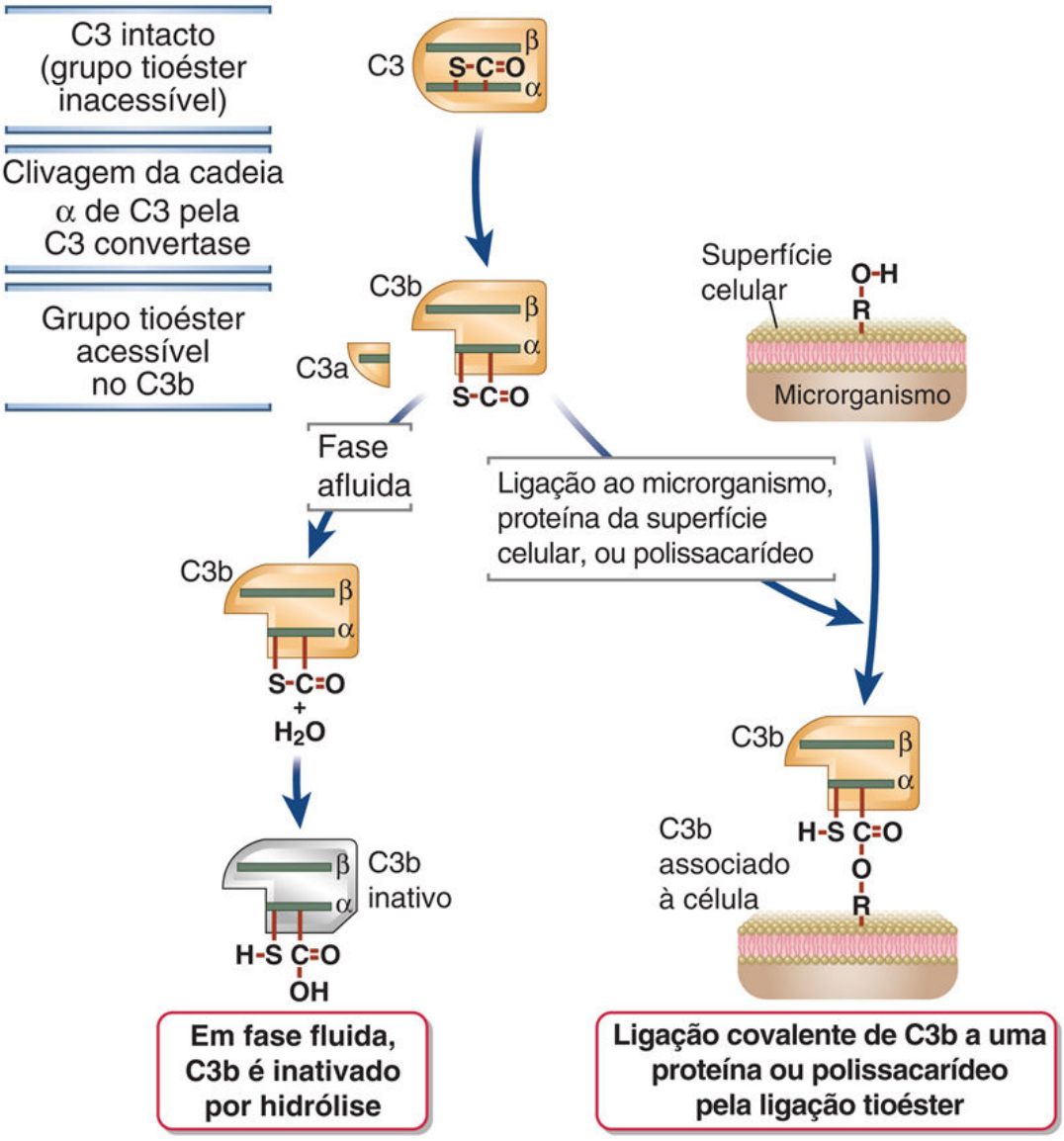


FIGURA 13-8 Ligações tioéster internas de moléculas de C3.
A clivagem proteolítica da cadeia α de C3 a converte para uma forma metaestável na qual as ligações tioéster internas são expostas e tornam-se suscetíveis ao ataque nucleofílico de átomos de oxigênio (como mostrado) ou de nitrogênio. O resultado é a formação de ligações covalentes com proteínas ou carboidratos nas superfícies celulares. O C4 é estruturalmente homólogo a C3 e tem um grupamento tioéster idêntico.

Quando o C3b passa pela mudança conformacional pós- -clivagem, é exposto um sítio de ligação para uma proteína plasmática chamada Fator B. O Fator B liga-se, então, à proteína C3b, que fica agora preso de forma covalente à superfície da célula. O Fator B ligado é, por sua vez, clivado por uma serina protease plasmática chamada Fator D, liberando um fragmento pequeno denominado Ba e gerando um fragmento maior chamado Bb que permanece ligado ao C3b. O complexo C3bBb é a C3 convertase da via alternativa e atua

clivando mais moléculas de C3, estabelecendo, assim, uma sequência de amplificação. Mesmo quando o C3b é gerado pelas vias clássica ou das lectinas, ele pode formar um complexo com Bb e esse complexo é capaz de clivar mais C3. Assim, a C3 convertase da via alternativa atua para amplificar a ativação do complemento iniciado por qualquer uma das vias: alternativa, clássica ou das lectinas. Quando o C3 é clivado, o C3b permanece ligado às células e o C3a é liberado. Esse fragmento solúvel tem várias atividades biológicas que serão discutidas posteriormente.

A ativação da via alternativa ocorre prontamente nas superfícies de células microbianas, mas não em células de mamífero. Se o complexo C3bBb é formado na superfície das células de mamíferos, é rapidamente degradado e a reação finalizada pela ação de diversas proteínas reguladoras presentes nessas células (discutido adiante). A ausência de proteínas reguladoras nas células microbianas permite a ligação e a ativação da C3 convertase da via alternativa. Além disso, uma outra proteína da via alternativa, denominada properdina, pode se ligar e estabilizar o complexo C3bBb, e a ligação da properdina é favorecida nos microrganismos, em oposição às células normais do hospedeiro. A properdina é liberada por neutrófilos ativados (e também pode ser produzida por macrófagos e algumas células T), sendo o único fator conhecido de regulação positiva do complemento.

Algumas das moléculas de C3b geradas pela C3 convertase da via alternativa ligam-se à própria convertase. Isso resulta na formação de um complexo contendo uma porção de Bb e duas moléculas de C3b, que funciona como a C5 convertase da via alternativa, a qual cliva C5 e inicia as etapas tardias da ativação do complemento.

A Via Clássica

A via clássica é iniciada pela ligação da proteína C1 do complemento aos domínios C_H2 das moléculas de IgG ou aos domínios C_H3 das moléculas de IgM que possuem antígeno ligado a elas (Fig. 13.9 e Tabela 13.5). Entre os anticorpos IgG, a IgG1 e a IgG3 (em humanos) são ativadores do complemento mais eficientes do que as outras subclasses. A IgG2 tem alguma capacidade de ativar o complemento, mas IgG4 não. O C1 é um complexo proteico grande e multimérico, composto pelas subunidades C1q, C1r e C1s; C1q liga-se ao anticorpo, enquanto C1r e C1s são proteases. A subunidade C1q é constituída por um arranjo radial de seis cadeias, semelhante a um guarda-chuva, cada uma contendo uma cabeça globular ligada a uma haste central por meio de um braço do tipo colágeno (Fig. 13.10). Esse hexâmero executa a função de reconhecimento da molécula e liga-se especificamente às regiões Fc da cadeia pesada μ e de algumas cadeias pesadas γ.

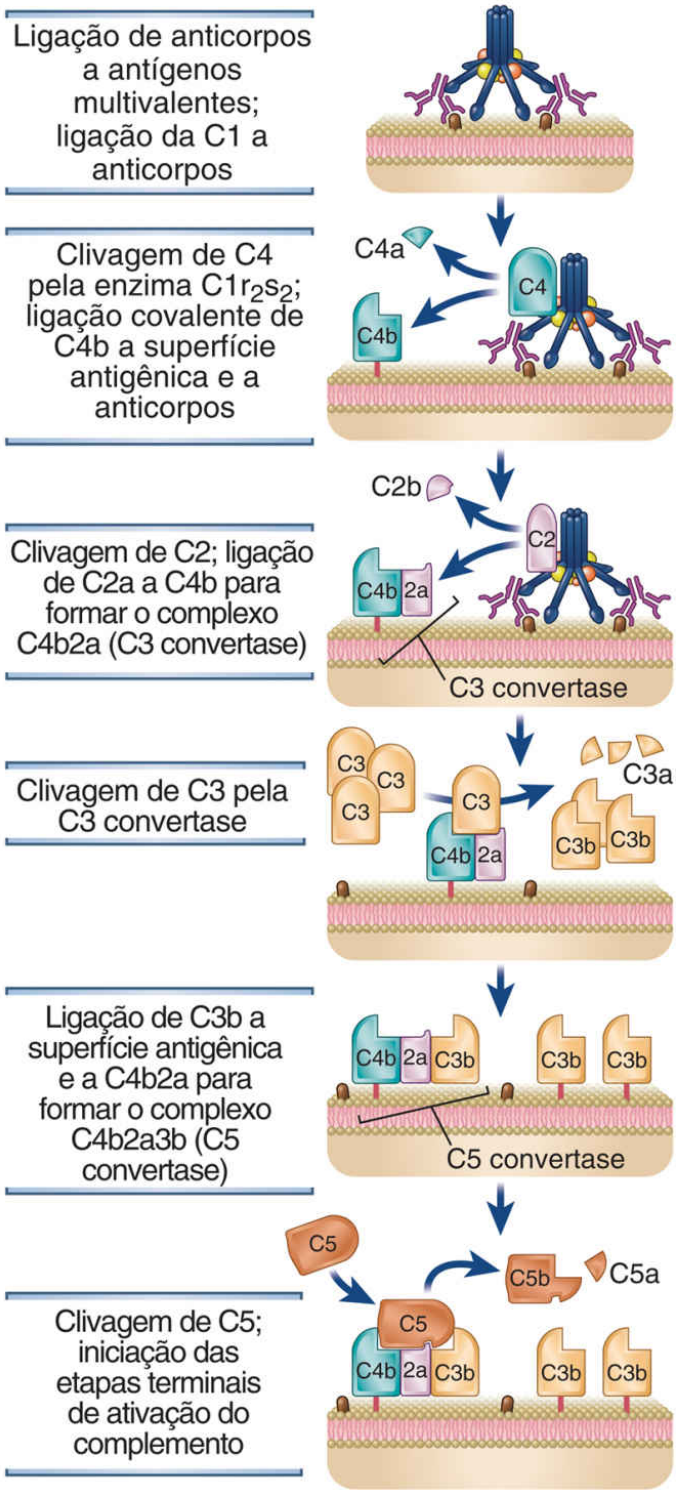


FIGURA 13.9 Via clássica da ativação do complemento.
Os complexos antígeno-anticorpo que ativam a via clássica podem ser solúveis, fixados na superfície de células (como mostrado) ou depositados em matrizes extracelulares. A via clássica é iniciada pela ligação do C1 a moléculas de anticorpo complexadas ao antígeno, que leva à produção das convertases de C3 e de C5 ligadas às superfícies

nas quais os anticorpos foram depositados. A C5 convertase cliva C5 para iniciar as etapas terminais de ativação do complemento.

Tabela 13.5

Proteínas da Via Clássica do Complemento

Proteína	Estrutura	Concentração Sérica (μg/mL)	Função
C1 (C1qr2s2)	750 kDa	–	Inicia a via clássica.
C1q	460 kDa; hexâmero com três pares de cadeias (22, 23, 24 kDa)	50-150	Liga-se a porção Fc do anticorpo que está ligado ao antígeno, a células apoptóticas e a superfícies catiônicas.
C1r	Dímero de 85 kDa	50	Serina protease, cliva C1s para torná-la ativa.
C1s	Dímero de 85 kDa	50	Serina protease, cliva C4 e C2.
C4	210 kDa; trímero com cadeias de 97, 75 e 33 kDa	300-600	C4b liga-se covalentemente a superfície de um microrganismo ou célula, onde o anticorpo está ligado e o complemento é ativado. C4b liga-se a C2 para clivagem por C1s. C4b estimula inflamação (anafilatoxina).
C2	Monômero de 102 kDa	20	C2a é uma serina protease e atua como enzima ativa da C3- e C5 convertase para clivar C3 e C5.
C3	Ver Tabela 13.4		

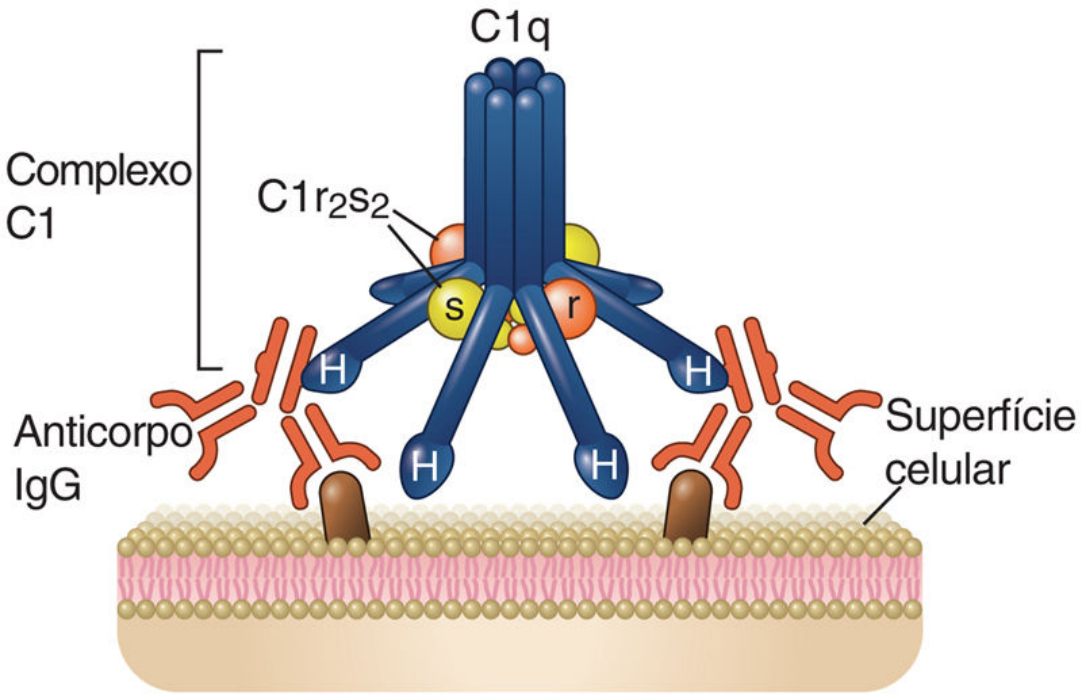


FIGURA 13.10 Estrutura de C1.
C1q consiste em seis subunidades idênticas arranjadas para formar um núcleo central com braços radiais simetricamente projetados. As cabeças globulares na terminação de cada braço, designadas H, são as regiões de contato para a imunoglobulina. C1r e C1s formam um tetrâmero composto de duas moléculas de C1r e duas de C1s. As extremidades de C1r e de C1s contêm os domínios catalíticos dessas proteínas. Um tetrâmero C1r2s2 enrola-se em volta dos braços radiais do complexo C1q de tal maneira que os domínios catalíticos de C1r e de C1s ficam justapostos.

Somente anticorpos ligados a antígenos, e não anticorpos livres circulantes, podem iniciar a ativação da via clássica (Fig. 13.11). A razão para isso é que cada molécula de C1q deve se ligar a pelo menos duas cadeias pesadas de Ig para ser ativada e cada região Fc de Ig tem apenas um único sítio de ligação a C1q. Dessa maneira, duas ou mais regiões Fc precisam estar acessíveis a C1 para que a ativação da via clássica seja iniciada. Como cada molécula de IgG tem apenas uma região Fc, várias moléculas de IgG precisam estar próximas antes que C1q possa se ligar, e múltiplos anticorpos IgG somente são aproximados quando se ligam simultaneamente a epítopos idênticos de um antígeno multivalente ou a várias moléculas antigênicas em um microrganismo, célula ou superfície tecidual. Ainda que a IgM livre (circulante) seja pentamérica, não se liga a C1q porque suas regiões Fc estão em uma configuração inacessível a C1q. A ligação da IgM a um antígeno induz uma alteração conformacional que expõe os sítios de ligação nas regiões Fc, permitindo a ligação de C1q. Em decorrência de sua estrutura pentamérica, uma única molécula de IgM pode se ligar a duas moléculas de C1q, e essa é

uma das razões pela qual a IgM é um anticorpo mais eficiente para a ligação ao complemento (também chamada fixação do complemento) do que a IgG.

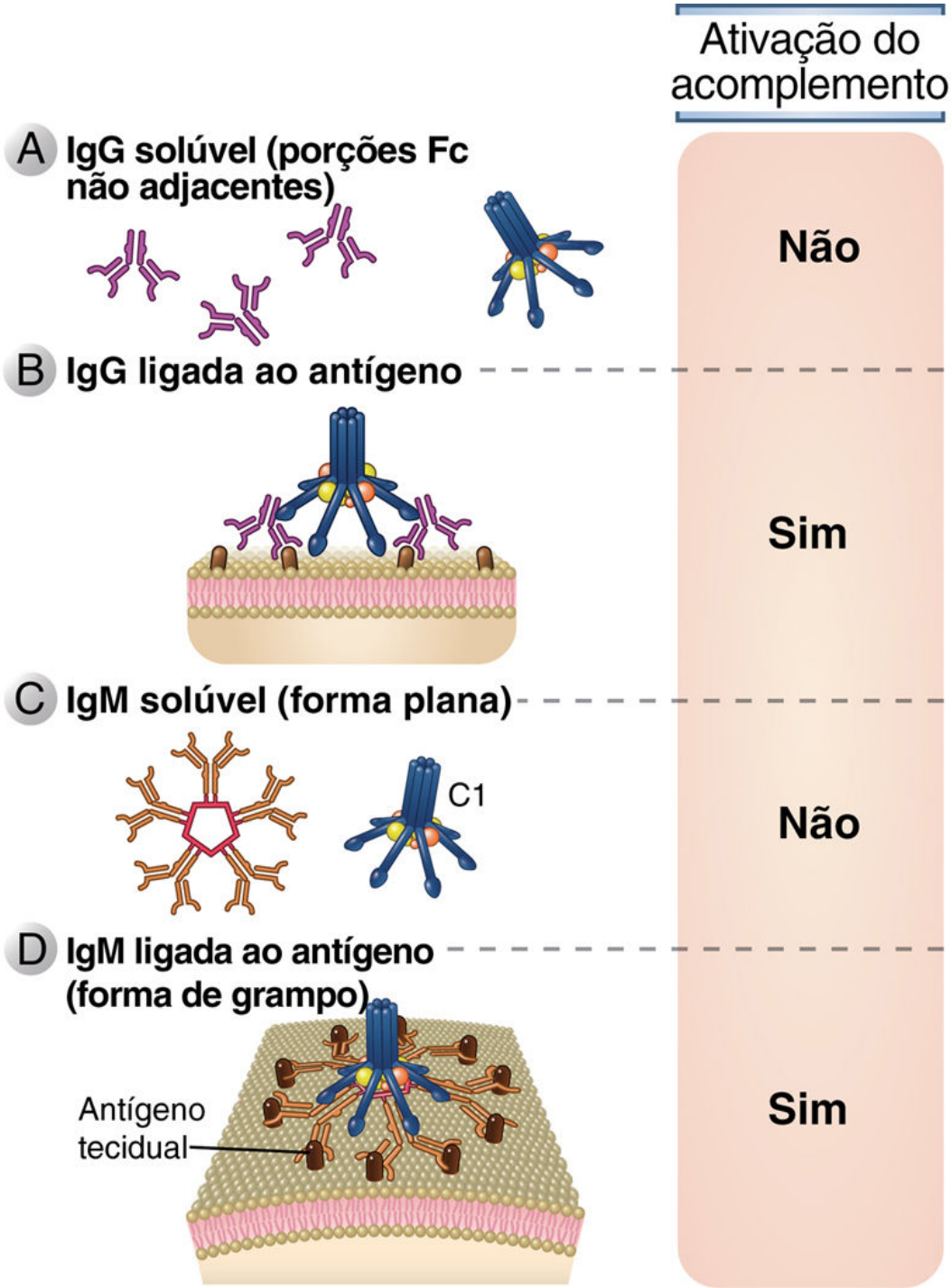


FIGURA 13.11 Ligação de C1 às porções Fc de IgM e de IgG.
C1 deve se ligar a duas ou mais porções Fc para iniciar a cascata do complemento. Moléculas de IgG solúveis não ativarão C1 porque cada IgG tem somente uma região Fc **(A)**, mas após a ligação aos antígenos de superfície celular, porções Fc de IgG adjacentes podem se ligar e ativar C1 **(B)**. As porções Fc de uma IgM pentamérica solúvel não são acessíveis a C1 e a ativação **(C)**. Após ligação a antígenos de superfície,

a IgM passa por uma mudança em sua forma que permite ligação a C1 e sua ativação **(D)**.

C1r e C1s são serina proteases que formam um tetrâmero contendo duas moléculas de cada uma das proteínas. A ligação de duas ou mais cabeças globulares de C1q a regiões Fc de IgG ou de IgM leva à ativação enzimática da C1r associada, que cliva e ativa C1s (Fig. 13.9). A C1s ativada cliva a proteína seguinte da cascata, C4, para gerar C4b. (O fragmento menor C4a é liberado e tem atividades biológicas que serão descritas mais adiante.) O C4 é homólogo a C3, e C4b contém uma ligação tioéster interna, semelhante àquela presente em C3b, que forma ligações covalentes do tipo amida ou éster com o complexo antígeno-anticorpo ou com a superfície adjacente de uma célula a qual o anticorpo esteja ligado. Essa ligação de C4b assegura que a ativação da via clássica prossiga sobre uma superfície celular ou imunocomplexo. A proteína seguinte do complemento, C2, se complexa com o C4b ligado à superfície celular, sendo clivada por uma molécula C1s próxima para gerar um fragmento solúvel C2b, de importância desconhecida, e um fragmento C2a maior que permanece fisicamente associado a C4b na superfície da célula. (Note que a nomenclatura dos fragmentos de C2 é diferente daquela usada para outras proteínas do complemento porque o fragmento ligado maior é chamado de peça *a* e a parte liberada é o fragmento *b*.) O complexo resultante, C4b2a, é a C3 convertase da via clássica, que tem a capacidade de se ligar e clivar proteoliticamente C3. A ligação desse complexo enzimático a C3 é mediada pelo componente C4b, e a proteólise é catalisada pelo componente C2a. A clivagem de C3 resulta na remoção do fragmento pequeno C3a, e o C3b pode formar ligações covalentes com as superfícies celulares ou com o anticorpo em que a ativação do complemento se iniciou. Após sua deposição, o C3b pode se ligar ao Fator B e gerar mais C3 convertase pela via alternativa, como discutido anteriormente. O resultado líquido das diversas etapas enzimáticas e de amplificação é que milhões de moléculas de C3b podem ser depositadas, em questão de minutos, na superfície celular em que o complemento é ativado. As estapas-chave iniciais das vias alternativa e clássica são análogas: o C3 da via alternativa é homólogo a C4 da via clássica, e o Fator B é homólogo a C2.

Algumas das moléculas de C3b geradas pela C3 convertase da via clássica ligam-se à convertase (como na via alternativa) e formam um complexo C4b2a3b. Esse complexo atua como a C5 convertase da via clássica; cliva C5 e inicia as etapas terminais da ativação do complemento.

A Via das Lectinas

A ativação do complemento pela via das lectinas é desencadeada pela ligação de polissacarídeos microbianos a lectinas circulantes, como a lectina ligante de manose (ou manana) plasmática (MBL, do inglês,* mannose-binding lectin*) ou

a ficolinas (Tabela 13.6). Essas lectinas solúveis são proteínas do tipo colágeno que se assemelham estruturalmente a C1q (Fig. 4.10). MBL, L-ficolina e H-ficolina são proteínas plasmáticas; a M-ficolina é secretada principalmente por macrófagos ativados nos tecidos. A MBL tem um domínio N-terminal do tipo colágeno e um domínio C-terminal de reconhecimento de carboidrato (lectina), sendo, dessa maneira, um membro da família das colectinas de aglutininas séricas. As ficolinas apresentam uma estrutura similar, com um domínio N-terminal do tipo colágeno e um domínio C-terminal do tipo fibrinogênio. Os domínios do tipo colágeno auxiliam na montagem das estruturas básicas em tripla hélice quem podem formar oligômeros de ordem superior. A MBL liga-se a resíduos de manose em polissacarídeos e o domínio do tipo fibrinogênio da ficolina liga-se aos glicanos contendo N-acetilglicosamina. Estes polissacarídeos e glicanos são abundantes em bactérias e fungos. Tanto a MBL quanto as ficolinas se ligam a serina proteases associadas à MBL (MASPs, do inglês *MBL-associated serine proteases*), incluindo MASP-1, MASP-2 e MASP-3 (Tabela 13.6). As MASPs são estruturalmente homólogas às proteases C1r e C1s e apresentam função semelhante, a saber, a clivagem de C4 e de C2 para ativar a via do complemento. Multímeros de MBL associam-se a MASP-1 e MASP-2 (ou MASP-3 e MASP-2), sendo MASP-2 a protease que cliva C4 e C2. Os eventos subsequentes desta via são idênticos àqueles que ocorrem na via clássica.

Tabela 13.6

Proteínas da Via das Lectinas do Complemento

Proteína	Estrutura	Concentração Sérica (μg/mL)	Função
Lectina ligante de manose	Trímero helicoidal com cadeia de 32 kDa; dímeros a hexâmeros dessa tripla-hélice	1-8	Aglutinina, opsonina, fixação do complemento
M-ficolina (ficolina-1)	Trímero helicoidal com cadeia de 34 kDa; um tetrâmero dessa tripla-hélice	Indetectável	Aglutinina, opsonina, fixação do complemento
L-ficolina (ficolina-2)	Trímero helicoidal com cadeia de 34 kDa; um tetrâmero dessa tripla-hélice	1-7	Aglutinina, opsonina, fixação do complemento
H-ficolina (ficolina3)	Trímero helicoidal com cadeia de 34 kDa; um tetrâmero dessa tripla-hélice	6-83	Aglutinina, opsonina, fixação do complemento
MASP-1	Homodímero de 90 kDa; homólogo a C1r/C1s	2-13*	Forma complexo com MASP-2 e com colectinas ou ficolinas e ativa MASP-3
MASP-2	Homodímero de 110 kDa; homólogo a C1r/C1s	2-13	Forma complexo com lectinas, especialmente ficolina-3
MASP-3	Homodímero de 76 kDa; homólogo a C1r/C1s	0,02-1,0	Associa-se a colectinas ou ficolinas e MASP-1 e cliva C4

* As concentrações mostradas podem ter sido influenciadas pela reatividade cruzada dos anticorpos com MASP-3; as concentrações de MASP-3 foram determinadas pelo uso de anticorpos monoclonais específicos. A maior parte dessas proteínas são plasmáticas, exceto a M-ficolina, que é secretada por macrófagos ativados.

Etapas Terminais da Ativação do Complemento

As C5 convertases geradas pelas vias alternativa, clássica ou das lectinas iniciam a ativação dos componentes da via terminal do sistema complemento, que culmina na formação do complexo de ataque à membrana (MAC, do inglês* membrane attack complex*) citocida (Tabela 13.7 e Fig. 13.12). As C5 convertases clivam C5 em um fragmento pequeno, C5a, que é liberado, e outro fragmento C5b com duas cadeias (contendo uma cadeia α e uma cadeia β), que também é liberado, mas se liga ao C6 plasmático. O C6 sofre uma mudança conformacional, e o complexo C5b-C6 liga-se à membrana celular através de interações iônicas e hidrofóbicas. O C5a tem potentes efeitos biológicos em diversas células que são discutidos adiante. O C7 plasmático se liga então à cadeia α do C5b e forma o complexo C5b-C6-C7 (C5b-7). O C7 ligado passa por

uma transição anfifílica, penetra na membrana e pode contribuir para a liberação de algumas micelas fosfolipídicas da membrana, porém não forma poros completos. A proteína C8 é um trímero composto por três cadeias distintas, uma das quais se liga ao componente C5b do complexo C5b-7 e forma um heterodímero covalente com a segunda cadeia; a terceira cadeia se insere na bicamada lipídica da membrana. Esse complexo C5b,6,7,8 (C5b-8) inserido estavelmente forma poros instáveis que variam de 0,4 a 3 nm de diâmetro, e grandes números desses complexos C5b-8 podem lisar as células. A formação de um MAC completamente ativo é alcançada pela ligação de C9, o componente final da cascata do complemento, ao complexo C5b-8. O C9 é uma proteína sérica que se polimeriza no local onde o C5b-8 está ligado para formar poros nas membranas plasmáticas, formando complexos C5b-9 que contêm C5b, C6, C7, C8 e muitas moléculas de C9. Esses poros têm aproximadamente 20 nm de diâmetro externo e 1 a 11 nm de diâmetro interno, com uma altura de aproximadamente 15 nm, e formam canais que permitem a livre circulação de água e de íons. O tamanho do canal varia com base no número de moléculas de C9 no complexo C5b-C9. Complexos tubulares de C9 apenas podem também se formar. A entrada de água resulta em dilatação osmótica e ruptura das células em cuja superfície o MAC foi depositado. Os poros na membrana formados pelo C9 polimerizado são semelhantes àqueles formados pela perforina, a proteína do grânulo citolítico encontrado em linfócitos T citotóxicos e em células NK (Capítulo 11), e o C9 é estruturalmente homólogo à perforina.

Tabela 13.7

Proteínas das Etapas Terminais da Ativação do Complemento

Proteína	Estrutura	Concentração Sérica (μg/mL)	Função
C5	Dímero de 190 kDa com cadeias de 115 e 75 kDa	80	C5b inicia a montagem do MAC. C5a estimula inflamação (anafilotoxina).
C6	Monômero de 110 kDa	45	Componente do MAC: liga-se ao C5b e aceita C7.
C7	Monômero de 110 kDa	90	Componente do MAC: liga-se a C5b,6 e insere-se na membrana lipídica.
C8	Trímero de 155 kDa com cadeias de 64, 64 e 22 kDa	60	Componente do MAC: liga-se a C5b,6,7 e inicia a ligação e polimerização do C9.
C9	Monômero de 79 kDa	60	Componente do MAC: liga-se a C5b,6,7,8 e polimeriza-se para formar poros na membrana.

MAC, Complexo de ataque à membrana.

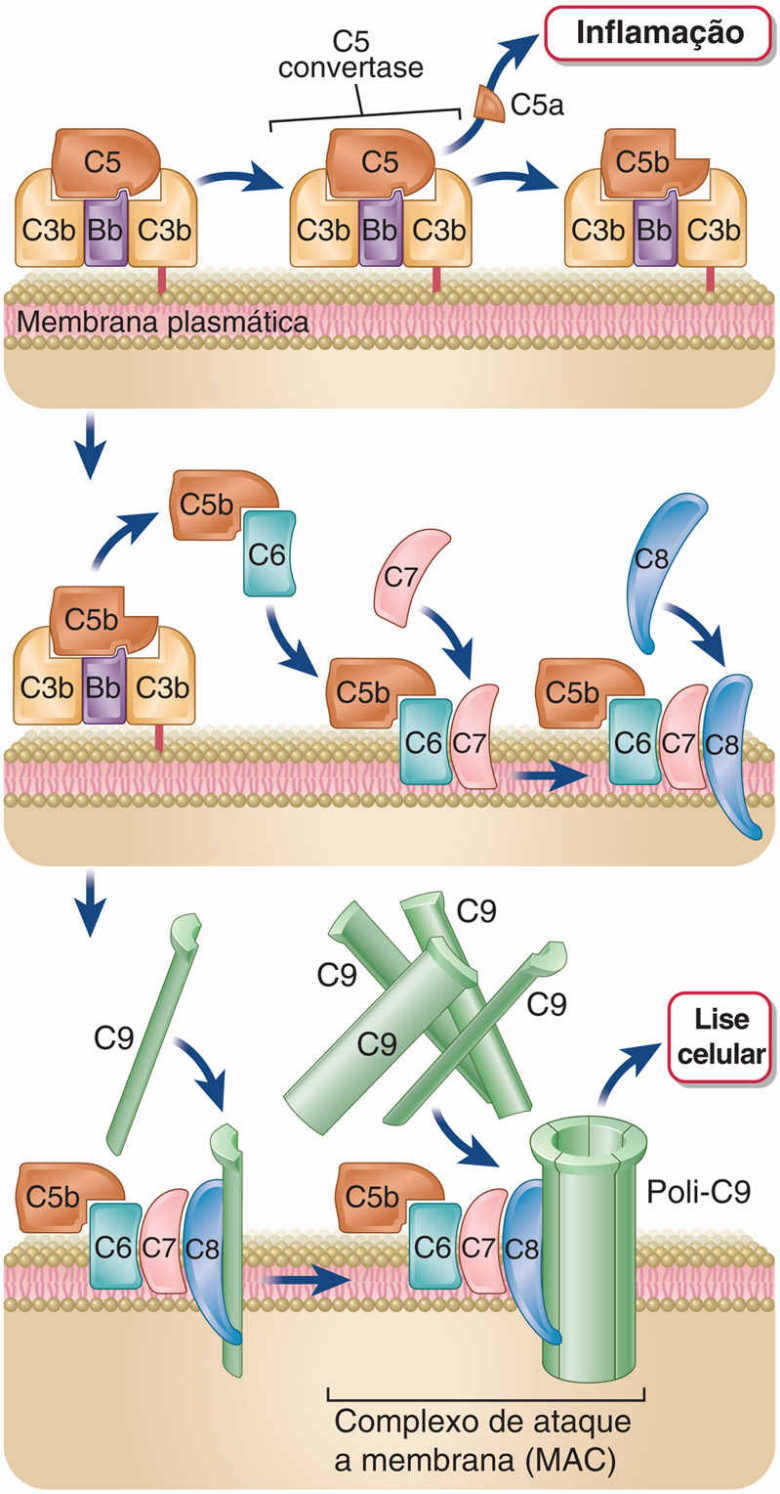


FIGURA 13.12 Etapas terminais da ativação do complemento e formação do complexo de ataque a membrana.
A C5 convertase associada à célula cliva C5 e gera C5b, que fica ligado à convertase. O C5b se liga a C6 e C7 sequencialmente e o complexo C5b-7 se insere na membrana plasmática, seguido pela formação do complexo C5b-8 que forma poros instáveis. O complexo C5b-8 pode

formar um poro com C9 e pode induzir C9 a se homo-oligomerizar. Até 15 moléculas de C9 podem se polimerizar para formar o complexo de ataque a membrana (MAC), o qual cria poros na membrana e induz a lise celular. O C5a liberado pela proteólise de C5 estimula a inflamação.

Receptores para Proteínas do Complemento

Muitas das atividades biológicas do sistema do complemento são mediadas pela ligação de fragmentos do complemento a receptores de membrana expressos em vários tipos celulares. Os mais bem caracterizados desses receptores são específicos para os fragmentos de C3 e são descritos aqui (Tabela 13.8).

- ***O receptor de complemento do tipo 1 (CR1, do inglês, type 1 complement receptor, ou CD35) atua principalmente para promover a fagocitose de partículas recobertas por C3b e C4b, para remover os imunocomplexos da circulação.*** O CR1 é um receptor de alta afinidade para C3b e C4b, expresso principalmente em células derivadas da medula óssea, incluindo eritrócitos, neutrófilos, monócitos, macrófagos, eosinófilos e linfócitos T e B; também é encontrado em células dendríticas foliculares (FDCs, do inglês, *follicular dendritic cells*) nos folículos dos órgãos linfoides periféricos. Os fagócitos utilizam esse receptor para se ligar e internalizar partículas opsonizadas com C3b ou C4b. A ligação das partículas recobertas por C3b ou C4b ao CR1 também transduz sinais que ativam os mecanismos microbicidas dos fagócitos, especialmente quando o receptor Fcγ é simultaneamente engajado por partículas revestidas com anticorpos. Nos eritrócitos, o CR1 liga-se a imunocomplexos circulantes com C3b e C4b ligados, e transporta esses complexos para o fígado e para o baço. Nesses órgãos, os fagócitos removem os imunocomplexos da superfície dos eritrócitos e os eritrócitos continuam a circular. O CR1 também é um regulador da ativação do complemento (discutido na seção a seguir).
- ***O receptor do complemento do tipo 2 (CR2 ou CD21) atua estimulando as respostas imunes humorais, aumentando a ativação de células B por antígenos e promovendo a retenção de complexos antígeno-anticorpo nos centros germinativos.*** O CR2 está presente em linfócitos B, FDCs e algumas células epiteliais. Liga-se especificamente aos produtos de clivagem de C3b, denominados C3d, C3dg e iC3b (i refere-se a inativo), gerados por proteólise mediada pelo Fator I (discutido mais adiante). Em células B, o CR2 é expresso como parte de um complexo trimolecular que inclui duas outras proteínas ligadas não covalentemente, denominadas CD19 e CD81 (ou TAPA-1, do inglês,

target of antiproliferative antibody-1). Esse complexo transmite sinais para as células B, aumentando suas respostas ao antígeno (Fig. 7.20). Nas FDCs, o CR2 atua capturando complexos antígeno-anticorpo recobertos por iC3b, C3d e C3dg nos centros germinativos. As funções do complemento relacionadas com a ativação de células B serão descritas mais adiante.

- ***O receptor do complemento do tipo 3, também chamado Mac-1 (CR3, CD11b/CD18), é uma integrina que atua como um receptor para o fragmento iC3b gerado por proteólise de C3b.*** O Mac-1 é expresso em neutrófilos, fagócitos mononucleares, mastócitos e células NK. Esse membro da família de integrinas (Capítulo 3) e consiste em uma cadeia α (CD11b) não covalentemente ligada a uma cadeia β (CD18) idêntica às cadeias β de duas moléculas de integrina estreitamente relacionadas, o antígeno associado à função de leucócitos 1 (LFA-1, do inglês, leukocyte function-associated antigen 1) e p150,95 (CR4). Em neutrófilos e monócitos, Mac-1 promove a fagocitose de microrganismos opsonizados com iC3b. Além disso, Mac-1 pode reconhecer diretamente bactérias para a fagocitose pela ligação a algumas moléculas microbianas desconhecidas (Capítulo 4). Mac-1 também se liga à molécula de adesão intercelular 1 (ICAM-1, do inglês, *intercellular adhesion molecule 1*) em células endoteliais e promove a adesão estável dos leucócitos ao endotélio, mesmo sem ativação do complemento. Essa ligação leva ao recrutamento de leucócitos para os locais de infecção e de lesão tecidual (Capítulo 3).
- ***O receptor de complemento do tipo 4 (CR4, p150,95, CD11c/CD18) é outra integrina com uma cadeia α diferente (CD11c) e a mesma cadeia β do Mac-1.*** O CR4 também se liga a iC3b e sua função é provavelmente semelhante à do Mac-1. O CD11c é abundantemente expresso em células dendríticas, sendo utilizado como um marcador para esse tipo de células.
- ***O receptor do complemento da família das imunoglobulinas (CRIg, do inglês, complement receptor of the immunoglobulin family) é expresso na superfície de macrófagos no fígado, conhecidos como células de Kupffer.*** O CRIg é uma proteína integral de membrana com uma região extracelular constituída por domínios de Ig. Liga-se aos fragmentos C3b e iC3b do complemento e está envolvido na remoção de bactérias opsonizadas e de outros patógenos transmitidos pelo sangue.
- Outros receptores incluem aqueles para C3a, C4a e C5a, que estimulam a inflamação. Os efeitos pró-inflamatórios desses fragmentos do complemento são mediados pela ligação dos peptídeos a receptores específicos em diversos tipos celulares. O receptor de C5a é o mais minucionamente caracterizado. É um membro da família de receptores acoplados a proteína G expressos em muitos tipos celulares como

neutrófilos, eosinófilos, basófilos, monócitos, macrófagos, mastócitos, células endoteliais, células musculares lisas, células epiteliais e astrócitos. O receptor de C3a é também um membro da família de receptores acoplados a proteína G.

Tabela 13.8

Receptores para Fragmentos de C3

Receptor	Estrutura	Ligantes	Distribuição Celular	Função
Receptor de complemento do tipo 1 (CR1, CD35)	160-250 kDa; múltiplos CCPRs	C3b > C4b > iC3b	Fagócitos mononucleares, neutrófilos, células B e T, eritrócitos, eosinófilos, FDCs	Fagocitose Eliminação de imunocomplexos Promove a dissociação das C3 convertases agindo como cofactor para clivagem de C3b, C4b
Receptor de complemento do tipo 2 (CR2, CD21)	145 kDa; múltiplos CCPRs	C3d, C3dg > iC3b	Linfócitos B, FDCs, epitélio nasofaríngeo	Correceptor para ativação da célula B Captura de antígenos nos centros germinativos Receptor para EBV
Receptor de complemento do tipo 3 (CR3, Mac-1, CD11bCD18)	Integrina, com cadeia α de 165 kDa e cadeia β2 de 95 kDa	iC3b, ICAM-1; também se liga a microrganismos	Fagócitos monoculares, neutrófilos, células NK	Fagocitose Adesão de leucócitos ao endotélio (via ICAM-1)
Receptor de complemento do tipo 4 (CR4, p150,95, CD11cCD18)	Integrina, com cadeia α de 150 kDa e cadeia β2 de 95kDa	iC3b	Fagócitos monoculares, neutrófilos, células NK	Fagocitose, adesão celular?

CCPRs, proteínas de repetição de controle do complemento; *EBV*, vírus Epstein-Barr; *FDCs*, células dendríticas foliculares; *ICAM-1*, molécula de adesão intercelular 1; *NK*, *natural killer*

Regulação da Ativação do Complemento

A ativação da cascata do complemento e a estabilidade de proteínas ativas do complemento são fortemente reguladas para evitar a ativação do complemento em células normais do hospedeiro e para limitar a duração dessa ativação, mesmo em células microbianas e complexos antígeno-anticorpo. A regulação do complemento é mediada por diversas proteínas circulantes e de membrana celular (Tabela 13.9). Muitas dessas proteínas pertencem a uma família denominada reguladores da atividade do complemento (RCA, do inglês, *regulators of complement activity*) e são codificadas por genes homólogos que estão localizados adjacentes um ao outro, fortemente agrupados na localização q3.2 do cromossomo 1. As proteínas RCA incluem as proteínas de membrana celular fator de aceleração do decaimento (DAF, do inglês, *decay accelerating factor*, ou CD55), proteína cofator de membrana (MCP, do inglês, *membrane cofactor protein*, ou CD46), receptor de complemento do tipo 1 (CR1/CD35) e receptor do complemento do tipo 2 (CR2/CD21). As proteínas RCA circulantes no plasma incluem o Fator H e a proteína ligante de C4 (C4BP, do inglês, *C4-binding protein*).

Tabela 13.9

Reguladores da Ativação do Complemento

Receptor	Estrutura	Distribuição	Interação com	Função
Inibidor de C1 (C1 INH)	104 kDa	Proteína plasmática; conc. 200 μg/mL	C1r, C1s	Inibidor de serina protease; liga-se a C1r a C1s e os dissocia de C1q
Fator I	Dímero de 88 kDa com subunidades de 50 e 38 kDa	Proteína plasmática; conc. 35 μg/mL	C4b, C3b	Serina protease; cliva C3b e C4b usando o fator H, MCP, C4BP ou CR1 como cofatores
Fator H	150 kDa; múltiplos CCPRs	Proteína plasmática; conc. 480 μg/mL	C3b	Liga-se a C3b e desloca Bb Cofator para clivagem de C3b mediada pelo Fator I
Proteína ligante de C4 (C4BP)	570 kDa; múltiplos CCPRs	Proteína plasmática; conc. 300 μg/mL	C4b	Liga-se a C4b e desloca C2 Cofator para clivagem de C4b mediada pelo Fator I
Proteína cofatora de membrana (MCP, CD46)	45-70 kDa; quatro CCPRs	Leucócitos, células epiteliais, células endoteliais	C3b, C4b	Cofator para clivagem de C3b e de C4b mediada pelo Fator I
Fator de aceleração de decaimento (DAF)	70 kDa; ligada a GPI, quatro CCPRs	Células sanguíneas, células endoteliais, células epiteliais	C4b2a, C3bBb	Desloca C2a de C4b e Bb de C3b (dissociação de C3 convertases)
CD59	18 kDa; ligada a GPI	Células sanguíneas, células endoteliais, células epiteliais	C7, C8	Bloqueia a ligação de C9 e evita a formação de MAC

CCPRs, proteínas de repetição de controle do complemento; *conc.*, concentração; *GPI*, glicofosfatidilinositol; *MAC*, complexo de ataque a membrana.

A ativação do complemento precisa ser regulada por dois motivos. Primeiro, baixos níveis de ativação do complemento ocorrem contínua e espontaneamente, e caso o prosseguimento dessa ativação seja permitido, o resultado pode ser danoso para as células e os tecidos normais. Segundo, mesmo quando o complemento é ativado onde é realmente necessário, precisa ser controlado porque os produtos da degradação de proteínas do complemento podem se difundir para as células adjacentes e produzir lesão.

Diferentes mecanismos reguladores inibem a formação das C3 convertases nas etapas iniciais da ativação do complemento, quebram e inativam as convertases de C3 e de C5 e inibem a formação do MAC nas etapas terminais da via do complemento.

- ***A atividade proteolítica de C1r, C1s e MASP-2 é inibida por uma proteína plasmática denominada inibidor de C1 (C1 INH, do inglês,* C1 inhibitor).** O C1 INH é um inibidor de serina proteases (serpina) que mimetiza os substratos normais de C1r e de C1s. Se o C1q se ligar a um anticorpo e iniciar o processo de ativação do complemento, o C1 INH torna-se um alvo da atividade enzimática do $C1r_2$-$C1s_2$ ligado. O C1-INH é clivado e se torna covalentemente ligado a essas proteínas do complemento e, como resultado, o tetrâmero $C1r_2$-$C1s_2$ se dissocia de C1q, impedindo, assim, a ativação da via clássica (Fig. 13.13). Dessa maneira, o C1 INH impede o acúmulo de $C1r_2$-$C1s_2$ enzimaticamente ativo no plasma e limita o tempo durante o qual $C1r_2$-$C1s_2$ ativo fica disponível para ativar as etapas subsequentes da cascata do complemento. De maneira semelhante, ao inativar MASP-2, o C1 INH também limita a via das lectinas. Uma doença hereditária autossômica dominante denominada **angioedema hereditário** ocorre em virtude de uma deficiência de C1 INH. As manifestações clínicas da doença incluem o acúmulo intermitente agudo de fluido edematoso na pele e mucosas, o que provoca dor abdominal, vômitos, diarreia e obstrução das vias respiratórias, potencialmente fatal. Em alguns desses pacientes, os níveis plasmáticos da proteína C1 INH estão bastante reduzidos (< 20 a 30% do normal), fazendo com que a ativação de C1 por imunocomplexos não seja adequadamente controlada e ocorra aumento da degradação de C4 e de C2. Os mediadores responsáveis pela formação do edema em pacientes com angioedema hereditário incluem um fragmento proteolítico de C2, chamado cinina C2, e a bradicinina. Além de C1, C1 INH é um inibidor de outras serina proteases plasmáticas, incluindo a calicreína e o fator XII da coagulação, ambas capazes de promover aumento na formação de bradicinina. Uma versão recombinante de C1 INH é usada atualmente para tratar pacientes com essa deficiência.
- ***A montagem dos componentes das convertases de C3 e C5 é inibida pela ligação de proteínas reguladoras da família RCA a C3b e C4b depositados nas superfícies celulares*** (Fig. 13.14). Se depositado sobre as superfícies de células normais de mamíferos, o C3 pode se ligar a várias proteínas de membrana, incluindo MCP (CD46), CR1 e DAF, além da proteína plasmática Fator H. De maneira semelhante, o C4b depositado nas superfícies celulares é ligado por DAF, CR1, MCP e pela

proteína plasmática C4BP. Ao se ligarem a C3b ou C4b, essas proteínas inibem competitivamente a ligação de outros componentes da C3 convertase, como Bb da via alternativa e C2a da via clássica, bloqueando, assim, a progressão adicional da cascata do complemento. (O Fator H inibe somente a ligação de Bb a C3b sendo, portanto, um regulador da via alternativa, mas não da via clássica.) MCP, CR1 e DAF são produzidos por células de mamíferos, mas não por microrganismos. Dessa maneira, os reguladores inibem seletivamente a ativação do complemento sobre as células do hospedeiro e permitem que prossiga em microrganismos. Além disso, as superfícies celulares ricas em ácido siálico favorecem a ligação da proteína reguladora Fator H em detrimento da proteína da via alternativa Fator B. As células de mamíferos expressam níveis mais elevados de ácido siálico do que a maioria dos microrganismos, outra razão pela qual a ativação do complemento é impedida nas células normais do hospedeiro e permitida nos microrganismos.

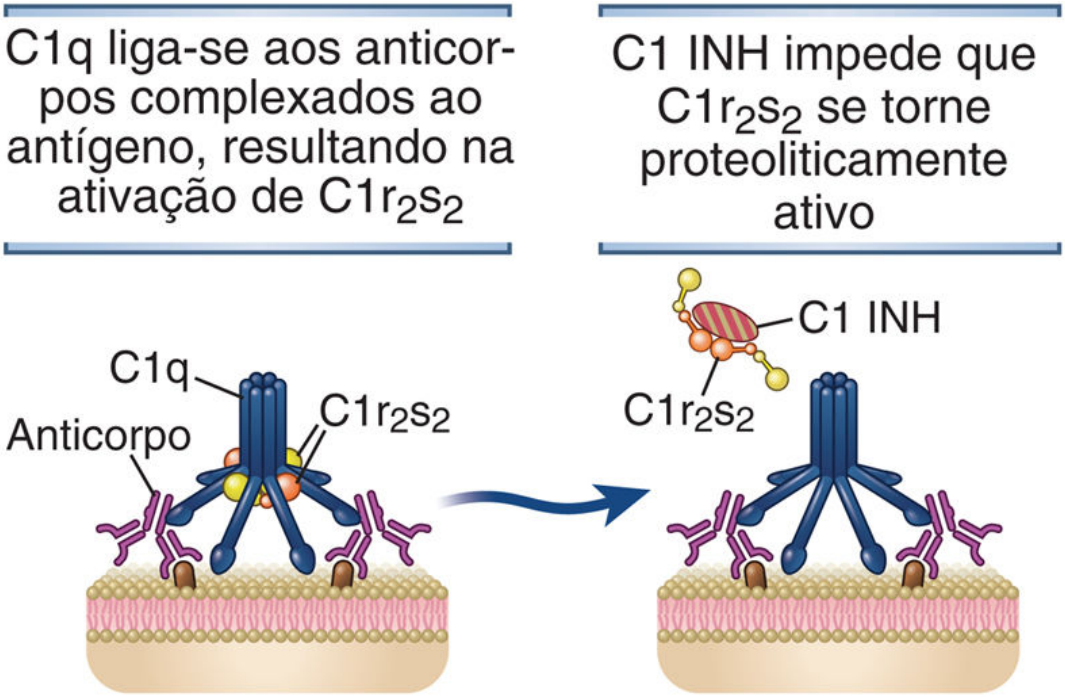


FIGURA 13.13 **Regulação da atividade de C1 pelo inibidor de C1.** O inibidor de C1 desloca C1r2s2 de C1q e interrompe a ativação da via clássica.

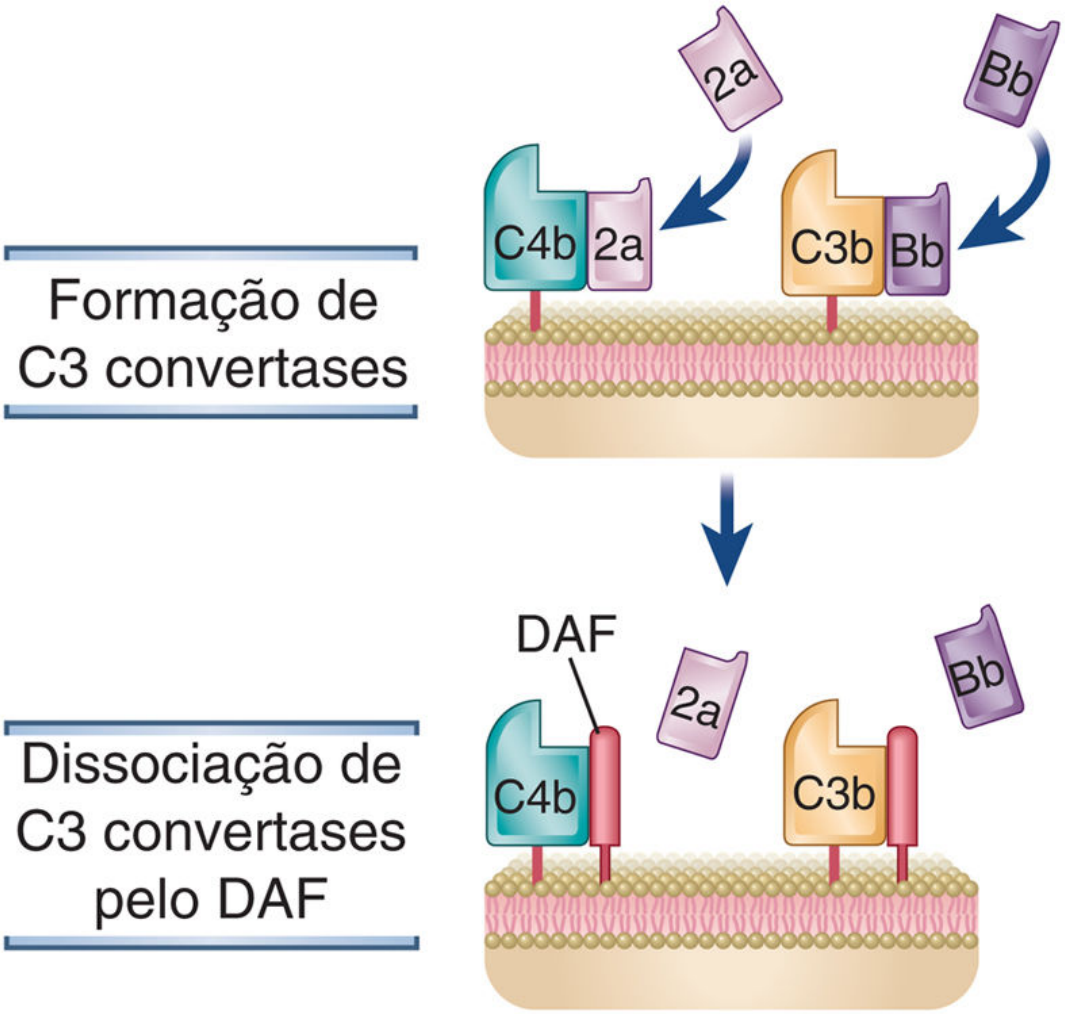


FIGURA 13.14 Inibição da formação de C3 convertases.
As C3 convertases da via clássica, C4b2a, ou da via alternativa, C3bBb, podem ser dissociadas pela substituição de um componente pelo fator de aceleração do decaimento (DAF). Outras proteínas reguladoras, como a proteína cofator de membrana (MCP) e CR1, atuam de maneira similar ao DAF (ver texto).

DAF é uma proteína de membrana ligada a GPI expressa em células endoteliais e eritrócitos. Uma deficiência da enzima necessária para formar tais ligações proteína-lipídeo em células-tronco hematopoiéticas resulta na incapacidade de expressar muitas proteínas de membrana ligadas a GPI, incluindo DAF e CD59 (ver a seguir), e causa uma doença chamada **hemoglobinúria paroxística noturna**. Essa doença é caracterizada por episódios recorrentes de hemólise intravascular atribuída, pelo menos parcialmente, à ativação desregulada do complemento na superfície de eritrócitos. A hemólise intravascular recorrente, por sua vez, leva a anemia hemolítica crônica e trombose venosa. Uma característica incomum dessa

doença é que a mutação causadora — no gene *DAF* — não é herdada, mas se trata de uma mutação adquirida em células-tronco hematopoiéticas.

- ***O C3b associado à célula é degradado proteoliticamente por uma serina protease plasmática chamada Fator I, que só é ativa na presença de proteínas reguladoras*** (Fig. 13.15). MCP, Fator H, C4BP e CR1 atuam todos como cofatores para clivagem de C3b (e C4b) mediada pelo Fator I. Assim, essas proteínas reguladoras das células do hospedeiro promovem a degradação proteolítica das proteínas do complemento; como discutido anteriormente, as mesmas proteínas reguladoras causam a dissociação dos complexos contendo C3b (e C4b). A clivagem de C3b mediada pelo Fator I gera os fragmentos chamados iC3b, C3d e C3dg, que não participam da ativação do complemento, mas são reconhecidos por receptores em fagócitos e linfócitos B.
- ***A inflamação induzida por C3a e C5a é regulada pela rápida clivagem de seus resíduos de arginina C-terminais por carboxipeptidases plasmáticas.*** Isso resulta na geração de C3a des-Arg e C5a des-Arg, as quais possuem aproximadamente 10% apenas da atividade da forma nativa dessas proteínas.
- ***A formação do MAC é inibida por uma proteína de membrana chamada CD59.*** O CD59 é uma proteína ligada a GPI expressa em muitos tipos celulares, que funciona por meio da sua autoincorporação aos MACs que estão sendo montados após a inserção de C5b-8 na membrana, inibindo, dessa forma, a subsequente adição de moléculas C9 (Fig. 13.16). O CD59 está presente nas células normais do hospedeiro, onde limita a formação de MAC, mas está ausente em microrganismos. A formação do MAC também é inibida por proteínas plasmáticas como a proteína S, que atua pela ligação aos complexos C5b,6,7 solúveis e, assim, impede sua inserção em membranas celulares próximas ao local onde a cascata do complemento foi iniciada. Os MACs em formação podem se inserir em qualquer membrana celular vizinha além da membrana em que foram gerados. Os inibidores do MAC no plasma e nas membranas celulares hospedeiras asseguram que não ocorra a lise de células "inocentes", que estejam de passagem ou próximas do local da ativação do complemento.

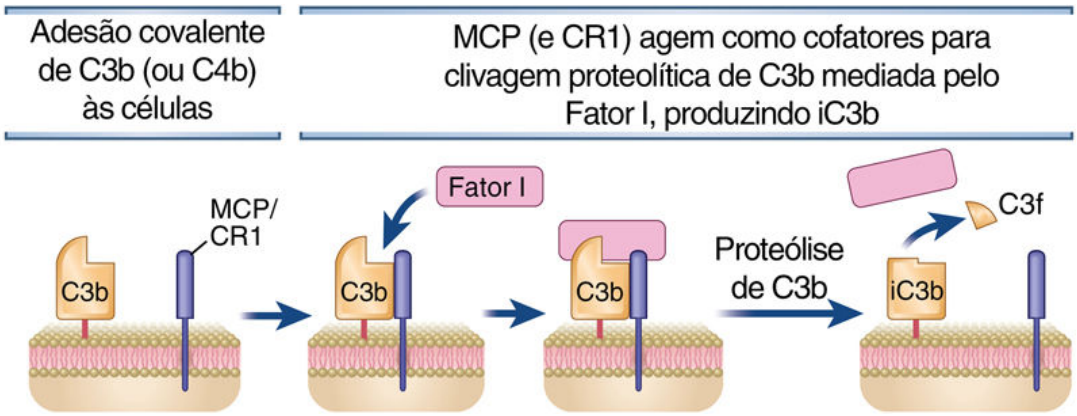


FIGURA 13.15 Clivagem de C3b mediada por Fator I.
Na presença de cofatores ligados a membrana celular (MCP ou CR1), o Fator I plasmático cliva proteoliticamente o C3b ligado às superfícies celulares, produzindo uma forma inativa de C3b (iC3b). O Fator H e a proteína ligante de C4 também podem servir de cofatores para a clivagem de C3b mediada pelo Fator I. O mesmo processo está envolvido na proteólise de C4.

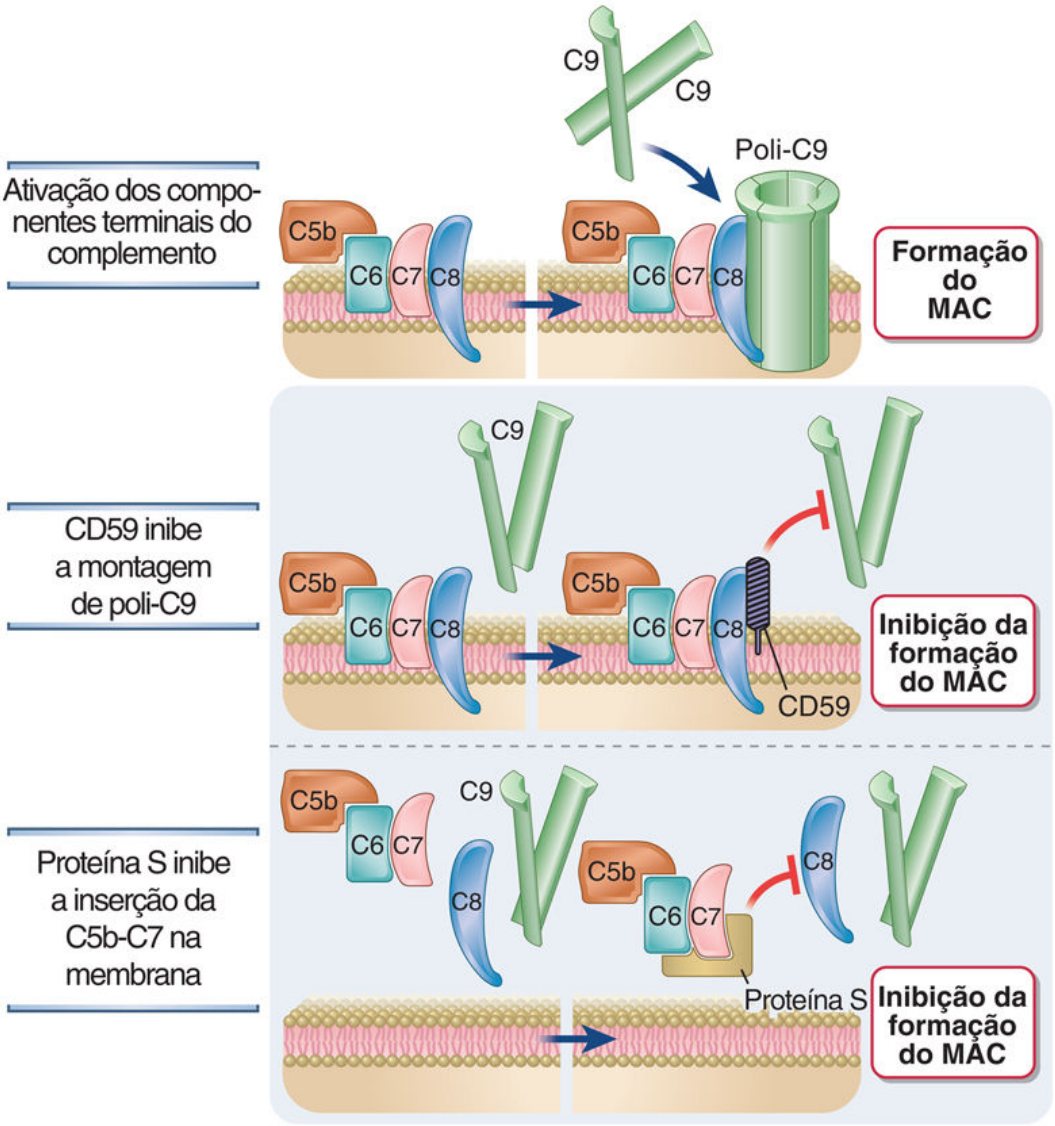


FIGURA 13.16 Regulação da formação do complexo de ataque a membrana.
O MAC é formado sobre as superfícies celulares como resultado final da ativação do complemento. A proteína de membrana CD59 e a proteína S plasmática inibem a formação do MAC no plasma.

Uma porção apreciável da análise da função de proteínas reguladoras do complemento baseou-se em experimentos *in vitro*, e a maior parte desses experimentos concentrou-se em ensaios que determinam a lise celular mediada pelo MAC como um ponto final. Com base nesses estudos, acredita-se que exista uma hierarquia, em termos de importância, para a inibição da ativação do complemento: CD59 > DAF > MCP; essa hierarquia deve refletir a relativa abundância dessas proteínas nas superfícies celulares.

A função das proteínas reguladoras pode ser suplantada pela excessiva ativação das vias do complemento. Temos enfatizado a importância dessas

proteínas reguladoras na prevenção da ativação do complemento em células normais. No entanto, a fagocitose mediada pelo complemento e os danos a células normais são mecanismos patogênicos importantes em muitas doenças imunológicas (Capítulo 19). Nessas doenças, grandes quantidades de anticorpos podem ser depositadas nas células hospedeiras, gerando proteínas ativas do complemento suficientes para que as moléculas reguladoras sejam incapazes de controlar a ativação do complemento.

Funções do Complemento

As principais funções do sistema do complemento na imunidade inata e na imunidade adaptativa humoral são: promover a fagocitose de microrganismos sobre os quais o complemento é ativado, estimular a inflamação e induzir a lise desses microrganismos. Além disso, os produtos de ativação do complemento facilitam a ativação dos linfócitos B e a produção de anticorpos. A fagocitose, a inflamação e a estimulação da imunidade humoral são todas mediadas pela ligação de fragmentos proteolíticos de proteínas do complemento a vários receptores da superfície celular, enquanto a lise celular é mediada pelo MAC. Na próxima seção, descreveremos essas funções do sistema complemento e seus papéis na defesa do hospedeiro.

Opsonização e Fagocitose

Os microrganismos sobre os quais o complemento é ativado tornam-se recobertos com C3b, iC3b ou C4b, e são fagocitados pela ligação dessas proteínas a receptores específicos em macrófagos e neutrófilos (Fig. 13.17A). Como previamente discutido, a ativação do complemento leva à geração de C3b e de iC3b ligados covalentemente a superfícies celulares. Ambos, C3b e iC3b, atuam como opsoninas, em virtude do fato de se ligarem especificamente a receptores em neutrófilos e macrófagos. C3b e C4b (este último gerado somente pela via clássica) ligam-se a CR1, e iC3b liga-se a CR3 (Mac-1) e CR4. Por si só, o CR1 não é eficiente na indução da fagocitose de microrganismos recobertos com C3b, mas sua capacidade pode ser aumentada se os microrganismos estiverem revestidos com anticorpos IgG, que se ligam simultaneamente a receptores Fcγ. A ativação de macrófagos pela citocina IFN-γ também melhora a fagocitose mediada por CR1. A fagocitose de microrganismos dependente de C3b e de iC3b é um importante mecanismo de defesa contra infecções nas imunidades inata e adaptativa. Um exemplo da importância do complemento é a defesa do hospedeiro contra bactérias com cápsulas ricas em polissacarídeos, tais como pneumococos e meningococos, mediada primariamente pela imunidade humoral. Os anticorpos IgM contra polissacarídeos capsulares ligam-se às bactérias, ativam a via clássica do complemento e estimulam a eliminação fagocítica das bactérias no baço. É por isso que indivíduos que perderam o baço

(p. ex.: como resultado da remoção cirúrgica após ruptura traumática ou em pacientes com anemia hemolítica autoimune ou trombocitopenia) são suscetíveis à septicemia pneumocócica e meningocócica disseminada.

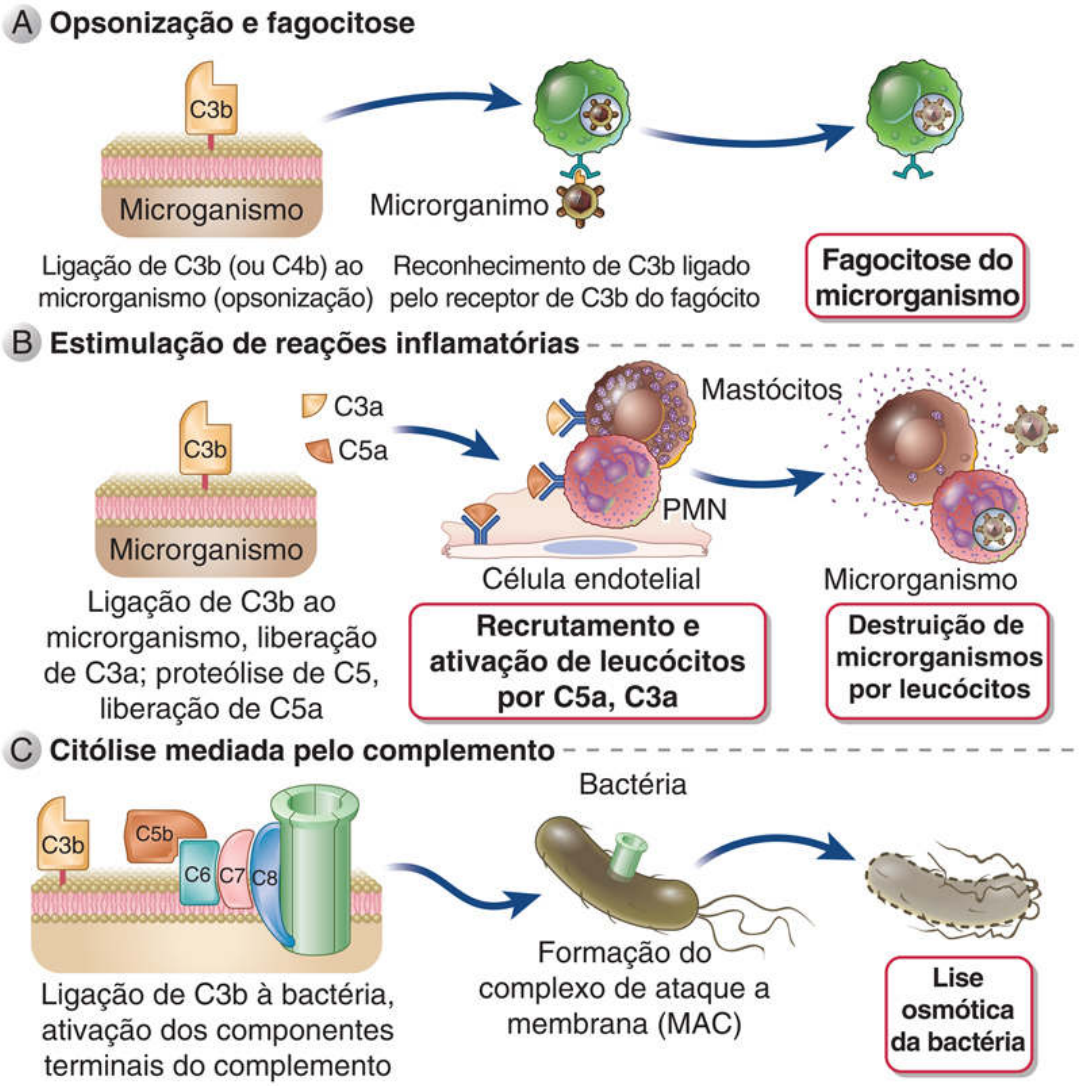


FIGURA 13.17 Funções do complemento.
As principais funções do sistema complemento na defesa do hospedeiro são mostradas. O C3b ligado à célula é uma opsonina que promove a fagocitose das células recobertas **(A)**; os produtos proteolíticos C5a, C3a e (em menor extensão) C4a estimulam o recrutamento de leucócitos e a inflamação **(B)**; e o complexo de ataque a membrana (MAC) lisa as células **(C)**.

Estimulação das Respostas Inflamatórias

Os fragmentos proteolíticos C5a, C4a e C3a do complemento induzem inflamação aguda pela ativação de mastócitos, neutrófilos e células endoteliais (Fig. 13.17B). Todos os três peptídeos ligam-se a mastócitos e induzem sua desgranulação, com a liberação de mediadores vasoativos, como a histamina. Esses peptídeos também são denominados anafilatoxinas porque as reações de mastócitos que desencadeiam são características da anafilaxia (Capítulo 20). Em neutrófilos, C5a estimula a motilidade, a adesão firme às células endoteliais e, em altas concentrações, o *burst* respiratório e a produção de espécies reativas de oxigênio. Além disso, C5a pode atuar diretamente sobre as células endoteliais vasculares e induzir aumento da permeabilidade vascular e expressão de P-selectina, que promove a ligação de neutrófilos. Essa combinação de ações de C5a em mastócitos, neutrófilos e células endoteliais contribui para a inflamação nos sítios de ativação do complemento. O C5a é o mediador mais potente de desgranulação de mastócitos; o C3a é cerca de 20 vezes menos potente; e o C4a, aproximadamente 2.500 vezes menos potente.

Citólise Mediada pelo Complemento

A lise de organismos estranhos mediada pelo complemento é realizada pelo MAC (Fig. 13.17C). A maioria dos patógenos desenvolveu paredes celulares espessas ou cápsulas durante sua evolução que impedem o acesso do MAC a suas membranas celulares. A lise mediada pelo complemento parece ser essencial apenas para a defesa contra alguns poucos agentes patogênicos que são incapazes de resistir à inserção do MAC, como bactérias do gênero *Neisseria*, que possuem paredes celulares muito delgadas.

Outras Funções do Sistema Complemento

Por se ligarem aos complexos antígeno-anticorpo, as proteínas do complemento promovem a solubilização desses complexos e sua remoção por fagócitos. Um pequeno número de imunocomplexos é frequentemente formado na circulação quando um indivíduo monta uma resposta vigorosa de anticorpos a um antígeno circulante. Se os imunocomplexos se acumulam no sangue, eles podem ser depositados na parede dos vasos e induzir reações inflamatórias que danificam os vasos e o tecido circundante. A formação de imunocomplexos pode exigir não apenas a ligação multivalente das regiões Fab da Ig aos antígenos, mas também as interações não covalentes das regiões Fc das moléculas de Ig justapostas. A ativação do complemento sobre moléculas de Ig pode bloquear estericamente essas interações Fc-Fc, promovendo, assim, a dissolução dos imunocomplexos. Além disso, como foi discutido anteriormente, os imunocomplexos com C3b aderido se ligam a CR1 nos eritrócitos e os complexos são removidos pelos fagócitos no fígado.

A proteína C3d gerada a partir de C3 liga-se a CR2 em células B e facilita a ativação dessas células e o início das respostas imunes humorais. C3d é gerado quando o complemento é ativado por um antígeno, seja diretamente (p. ex.: quando o antígeno é um polissacarídeo microbiano) ou após a ligação ao anticorpo. A ativação do complemento resulta na ligação covalente de C3b e de seu produto de clivagem, C3d, ao antígeno. Os linfócitos B podem se ligar ao antígeno através de seus receptores de Ig e, simultaneamente, ao C3d ligado ao antígeno por meio do CR2, o correceptor das células B, aumentando, assim, a sinalização antígeno-induzida nessas células (Capítulos 7 e 12). Antígenos opsonizados também se ligam às FDCs nos centros germinativos dos órgãos linfoides. As FDCs exibem os antígenos às células B nos centros germinativos, e esse processo é importante para a seleção de células B de alta afinidade (Fig. 12.19). A importância do complemento nas respostas imunes humorais é ilustrada pela grave diminuição da produção de anticorpos e formação do centro germinativo observadas em camundongos deficientes de C3 ou C4, ou ainda, da proteína CR2.

Deficiências do Complemento

As deficiências genéticas das proteínas do complemento e de proteínas reguladoras são as causas de várias doenças humanas. Foram descritas deficiências herdadas e espontâneas em muitas proteínas do complemento nos seres humanos.

- Foram descritas deficiências genéticas em componentes da via clássica, incluindo C1q, C1r, C4, C2 e C3; a deficiência de C2 é a mais comum em humanos. Mais de 50% dos pacientes com deficiências em C1q, C2 e C4 desenvolvem lúpus eritematoso sistêmico. A razão para essa associação entre defeitos do complemento e uma doença autoimune por imunocomplexos é desconhecida, mas pode estar relacionada à remoção inadequada de imunocomplexos circulantes decorrentes de defeitos na ativação do complemento. Se os imunocomplexos normalmente gerados não forem removidos da circulação, podem ser depositados nas paredes dos vasos sanguíneos e tecidos, onde ativam leucócitos por por meio de vias dependentes dos receptor Fc e produzem inflamação local. O complemento também pode exercer um papel importante na remoção de corpos apoptóticos contendo DNA fragmentado. Esses corpos apoptóticos são prováveis fontes de antígenos nucleares que desencadeiam respostas de autoanticorpos observadas no lúpus. Além disso, as proteínas do complemento regulam sinais mediados por antígenos recebidos pelas células B; na ausência desses antígenos, os autoantígenos podem não induzir tolerância das células B, resultando em autoimunidade. Alguns

pacientes com deficiências de C2 e de C4 apresentam suscetibilidade aumentada a infecções, enquanto outros são assintomáticos. A deficiência de C3 está associada a infecções frequentes e graves por bactérias piogênicas que podem ser fatais, ilustrando o papel central de C3 na opsonização, aumento da fagocitose e destruição desses organismos.

- As deficiências em componentes da via alternativa resultam em aumento da suscetibilidade a infecções meningocócicas. Deficiências do Fator B e do Fator D são raras, mas a deficiência recessiva ligada ao X da properdina é mais comum. Mutações de genes que codificam MBL e MASP-2 contribuem para a imunodeficiência em alguns pacientes, discutida no Capítulo 21.
- Deficiências em componentes da via terminal do complemento, incluindo C5, C6, C7, C8 e C9 também foram descritas. Curiosamente, como mencionado anteriormente, o único problema clínico consistente nesses pacientes é uma propensão no desenvolvimento de infecções disseminadas por bactérias do gênero *Neisseria*, incluindo *Neisseria meningitidis* e *Neisseria gonorrhoeae*. Como também mencionado, a lise bacteriana mediada pelo complemento é particularmente importante para a defesa contra esses organismos de paredes delgadas.
- As deficiências em proteínas reguladoras do complemento estão associadas a ativação anormal do complemento e uma variedade de anormalidades clínicas associadas.
    - As deficiências de C1 INH e DAF foram mencionadas anteriormente.
    - Em pacientes com deficiência do Fator I, há depleção do C3 plasmático como resultado da formação desregulada de C3 convertase em fase fluida (pelo mecanismo *tickover* normal). A consequência clínica é o aumento de infecções por bactérias piogênicas.
    - A deficiência do Fator H é rara e caracterizada por excesso de ativação da via alternativa, consumo de C3, e glomerulonefrite causada pela remoção inadequada de imunocomplexos e deposição de subprodutos do complemento nos rins.
    - Uma forma de síndrome hemolítico-urêmica envolve a regulação defeituosa do complemento, e as mutações mais comuns dessa condição ocorrem no gene *Fator H*. Outro gene mutado em muitos pacientes é *MCP*. Crianças com essa doença apresentam anemia hemolítica microangiopática, trombocitopenia e insuficiência renal aguda, todas desencadeadas por lesão celular endotelial causada pela hiperativação da via alternativa do complemento. O Fator H ou MCP mutantes se ligam com menos eficiência a C3b e C4b

em superfícies endoteliais e, como resultado, levam a formação de microtrombos e dano vascular.
    - Os efeitos de uma ausência do Fator I ou do Fator H são semelhantes aos de um autoanticorpo denominado fator nefrítico de C3 (C3NeF, do inglês, *C3 nephritic factor*), específico para a C3 convertase da via alternativa (C3bBb). O C3NeF estabiliza C3bBb e protege o complexo de dissociação mediada pelo Fator H, o que resulta em consumo desregulado de C3. Os pacientes com esse anticorpo frequentemente apresentam glomerulonefrite, possivelmente causada pela remoção inadequada de imunocomplexos circulantes.
    - Variações alélicas específicas do Fator H estão fortemente associadas com a degeneração macular associada ao envelhecimento. A inflamação excessiva na ausência de regulação do complemento contribui para a disrupção de células fotorreceptoras na região da mácula e consequente cegueira.
    - Mutações no gene da PIG-A (fosfatidilinositol glicosiltransferase-A, do inglês, *phosphatidylinositol glycosyltransferase-A*) resulta em hemoglobinúria paroxística noturna, como resultado do defeito em âncoras de GPI no CD59 e DAF, discutido anteriormente. Tanto pacientes com hemoglobinúria paroxística noturna quanto síndrome hemolítico-urêmica aguda respondem ao tratamento com anticorpo monoclonal humanizado contra C5.
- Deficiências em receptores do complemento incluem a ausência de CR3 e CR4, ambas resultantes de mutações raras na cadeia β (CD18) compartilhada pela família CD11/CD18 de moléculas de integrina. A doença causada por esse defeito genético é chamada deficiência de adesão leucocitária (Capítulo 21). O distúrbio é caracterizado por infecções piogênicas recorrentes e é causado por adesão inadequada de neutrófilos ao endotélio nos sítios de infecção tecidual e, talvez, pela fagocitose prejudicada de bactérias dependente de iC3b.

Efeitos Patológicos do Sistema Complemento

Mesmo quando devidamente regulado e apropriadamente ativado, o sistema complemento pode causar lesão tecidual significativa. Alguns dos efeitos patológicos associados a infeções bacterianas podem ocorrer em decorrência de respostas inflamatórias agudas mediadas pelo complemento a organismos infecciosos. Em algumas situações, a ativação do complemento está associada a trombose intravascular e pode levar a lesões isquêmicas nos tecidos. Por exemplo, os anticorpos antiendotélio contra órgãos vascularizados

transplantados e os imunocomplexos produzidos em doenças autoimunes podem se ligar ao endotélio vascular e ativar o complemento, induzindo desse modo a inflamação e a geração do MAC, com danos à superfície endotelial, o que favorece a coagulação. Também há evidências de que algumas das proteínas terminais do complemento podem ativar protrombinases na circulação, iniciando a trombose independente de danos endoteliais mediados pelo MAC.

Os exemplos mais evidentes de patologia mediada pelo complemento são doenças mediadas por imunocomplexos. A vasculite sistêmica e a glomerulonefrite por imunocomplexo resultam da deposição de complexos antígeno-anticorpo nas paredes dos vasos sanguíneos e glomérulos renais (Capítulo 19). O complemento ativado por esses imunocomplexos depositados inicia respostas inflamatórias agudas que destroem as paredes dos vasos ou glomérulos e levam a trombose, dano isquêmico tecidual e cicatrização. Estudos com camundongos deficientes das proteínas C3 ou C4 do complemento ou para receptores Fcγ, sugerem que a ativação de leucócitos mediada pelo receptor Fc também pode causar inflamação e lesão tecidual como resultado da deposição de IgG, mesmo na ausência de ativação do complemento.

Mencionamos previamente duas terapias que têm o sistema complemento como alvo e que estão atualmente em uso. Anticorpos contra o C5 humano são usados hoje em dia para tratar pacientes com hemoglobinúria paroxística noturna e com síndrome hemolítico-urêmica atípica. O C1 INH recombinante humano é usado para tratar pacientes com angioedema hereditário.

Evasão do Complemento por Microrganismos

Os patógenos evoluíram diversos mecanismos de evasão do sistema complemento. Alguns microrganismos sintetizam paredes celulares espessas que previnem a ligação das proteínas de complemento, como o MAC. As bactérias Gram-positivas e alguns fungos são exemplos de microrganismos que usam essa estratégia de evasão relativamente inespecífica. Alguns mecanismos mais específicos utilizados por certos patógenos serão aqui considerados. Esses mecanismos de evasão podem ser divididos em três grupos.

- ***Microrganismos podem se evadir do sistema complemento por meio do recrutamento de proteínas reguladoras do complemento do hospedeiro***. Muitos patógenos, em contraste aos microrganismos não patogênicos, expressam ácidos siálicos, que podem inibir a via alternativa do complemento por recrutamento do Fator H, o qual dissocia C3b de Bb. Alguns patógenos, como esquistossomas, *N. gonorrhoeae* e certas espécies de *Haemophilus*, removem os resíduos de ácido siálico do hospedeiro e transferem enzimaticamente o açúcar para suas superfícies celulares. Outros, incluindo *Escherichia coli K1* e alguns

meningococos, evoluíram rotas biossintéticas especiais para a geração de ácido siálico. Alguns microrganismos sintetizam proteínas que podem recrutar a proteína reguladora Fator H para a superfície da célula. A GP41, do vírus da imunodeficiência humana (HIV, do inglês, *human immunodeficiency virus*), pode se ligar ao Fator H, e acredita-se que essa propriedade do vírus contribua para a proteção do vírion. Muitos outros patógenos evoluíram proteínas que facilitam o recrutamento do Fator H para suas paredes celulares. Esses patógenos incluem: bactérias, como *Streptococcus pyogenes*, *Borrelia burgdorferi* (o agente causador da doença de Lyme), *N. gonorrhoeae* e *N. meningitidis*; o fungo patogênico *Candida albicans*; e nematoides, como o *Echinococcus granulosus*. Outros microrganismos, tais como o HIV, incorporam múltiplas proteínas reguladoras do hospedeiro em seus envelopes. Por exemplo, o HIV incorpora as proteínas reguladoras do complemento ancoradas por GPI, como o DAF e o CD59, quando brota de uma célula infectada.

- ***Inúmeros patógenos produzem proteínas específicas que mimetizam as proteínas reguladoras do complemento humano.*** *E. coli* produz uma proteína ligante de C1q (C1qBP, do inglês, *C1q-binding protein*) que inibe a formação de um complexo entre C1q, C1r e C1s. *Staphylococcus aureus* produz uma proteína chamada inibidor do complemento de estafilococos (SCIN, do inglês, *staphylococcal complement inhibitor*) que se liga às C3 convertases, inibindo-as de forma estável e, assim, bloqueando todas as três vias do complemento. A glicoproteína C-1 do vírus herpes simples desestabiliza a convertase da via alternativa, impedindo que seu componente C3b se ligue à properdina. A GP160, uma proteína de membrana do *Trypanosoma cruzi*, o agente causador da doença de Chagas, liga-se ao C3b e evita a formação da C3 convertase, além de acelerar sua degradação. A VCP-1 (do inglês, *vaccinia virus complement inhibitory protein 1*), uma proteína produzida pelo vírus vacínia, assemelha-se estruturalmente à C4BP humana, mas pode se ligar tanto a C4b quanto a C3b e acelera a degradação de ambas as convertases de C3 e de C5.
- ***A inflamação mediada pelo complemento também pode ser inibida por produtos gênicos microbianos.*** *S. aureus* sintetiza uma proteína chamada proteína inibidora de quimiocina de estafilococos (CHIPS, do inglês, *chemokine inhibitory protein of staphylococci*), que é uma antagonista da anafilatoxina C5a.

Esses exemplos ilustram como os microrganismos adquiriram a capacidade de se evadir do sistema complemento, presumivelmente contribuindo para sua virulência.

Imunidade Neonatal

Mamíferos neonatos são protegidos das infecções por anticorpos produzidos pela mãe, transportados através da placenta para a circulação fetal, e pelos anticorpos ingeridos no leite e transportados através do epitélio intestinal de recém-nascidos por um processo especializado conhecido como transcitose. Os recém-nascidos não têm a capacidade de montar respostas imunes eficazes contra microrganismos e, durante vários meses após o nascimento, sua principal defesa contra a infecção é a imunidade passiva fornecida pelos anticorpos maternos. A IgG materna é transportada através da placenta, e a IgA e IgG presentes no leite materno são ingeridas pelo lactente. O transporte transepitelial de IgA materna para o leite depende do receptor de poli-Ig descrito no Capítulo 14. Os anticorpos IgA e IgG ingeridos podem neutralizar organismos patogênicos que tentam colonizar o intestino do bebê, e alguns anticorpos IgG ingeridos podem ser transportados através do epitélio intestinal para a circulação do neonato. Assim, um recém-nascido possui, essencialmente, os mesmos anticorpos IgG que sua mãe.

O transporte da IgG materna através da placenta é mediado por um receptor Fc específico para IgG denominado **FcRn**. O FcRn é único entre os receptores Fc porque se assemelha a uma molécula do complexo de histocompatibilidade principal (MHC, do inglês, *major histocompatibility complex*) de classe I, contendo uma cadeia pesada transmembrana não covalentemente associada a β2-microglobulina. No entanto, a interação de IgG com o FcRn não envolve a porção da molécula que é análoga à fenda de ligação do peptídeo usado pelas moléculas de MHC de classe I para exibir os peptídeos para o reconhecimento pelas células T.

Os adultos também expressam o FcRn no endotélio, em macrófagos e em muitos outros tipos celulares. Esse receptor tem como função proteger os anticorpos IgG plasmáticos do catabolismo. Descrevemos esse processo no Capítulo 5.

Resumo

- A imunidade humoral é mediada por anticorpos e é o braço efetor do sistema imune adaptativo, responsável pela defesa contra microrganismos extracelulares e toxinas microbianas. Os anticorpos que conferem proteção contra infecções podem ser produzidos por células secretoras de anticorpos de vida longa, geradas após a primeira exposição ao antígeno microbiano ou por reativação de células B de memória induzida pelo antígeno.
- Os anticorpos bloqueiam, ou neutralizam, a infectividade de microrganismos por meio da ligação a esses organismos e impedindo estereoquimicamente suas interações com receptores celulares. De maneira semelhante, os anticorpos bloqueiam as ações patológicas de toxinas, impedindo sua ligação às células hospedeiras.
- As partículas recobertas com anticorpo (opsonizadas) são fagocitadas por meio da ligação das porções Fc dos anticorpos aos respectivos receptores em fagócitos. Existem vários tipos de receptores Fc específicos para distintas subclasses de IgG e para anticorpos IgA e IgE; diferentes receptores Fc ligam-se aos anticorpos com afinidades variáveis. A adesão de Ig complexada com antígeno aos receptores Fc dos fagócitos também desencadeia sinais que estimulam as atividades microbicidas dos fagócitos.
- O sistema complemento é composto por proteínas séricas e de membrana que interagem de maneira altamente regulada para produzir produtos biologicamente ativos. As três principais vias de ativação do complemento são a via alternativa, ativada em superfícies microbianas na ausência de anticorpo; a via clássica, ativada por complexos antígeno-anticorpo; e a via das lectinas, iniciada pela ligação de lectinas circulantes a carboidratos presentes em patógenos. Essas vias geram enzimas que clivam a proteína C3; os produtos de clivagem de C3 tornam-se covalentemente ligados a superfícies microbianas ou anticorpos, de modo que os passos subsequentes da ativação do complemento fiquem limitados a esses locais. Todas as vias convergem para uma via comum que envolve a formação de poros na membrana após a clivagem proteolítica de C5.
- A ativação do complemento é regulada por várias proteínas plasmáticas e de membrana celular que inibem diferentes etapas das cascatas.
- As funções biológicas do sistema complemento incluem opsonização de organismos e de imunocomplexos por fragmentos proteolíticos de C3, seguida pela ligação a receptores para esses fragmentos em

fagócitos e remoção por fagocitose, ativação de células inflamatórias por fragmentos proteolíticos de proteínas do complemento denominadas anafilatoxinas (C3a, C4a, C5a), citólise mediada pela formação do MAC nas superfícies celulares, solubilização e remoção dos imunocomplexos, e aumento das respostas imunes humorais.

- A imunidade protetora em neonatos é uma forma de imunidade passiva conferida pelos anticorpos maternos transportados através da placenta por um FcRn especializado.

Referências Sugeridas

Complemento

Garcia BL, Zwarthoff SA, Rooijakkers SH, Geisbrecht BV. Novel evasion mechanisms of the classical complement pathway. *J Immunol*. 2016;197:2051–2060.

Gros P, Milder FJ, Janssen BJ. Complement driven by conformational changes, Nature Reviews. *Immunology*. 2008;8:48–58.

Holers VM. Complement and its receptors: new insights into human disease. *Annu Rev Immunol*. 2014;32:433–459.

Liszewski MK, Java A, Schramm EC, Atkinson JP. Complement dysregulation and disease: insights from contemporary genetics. *Annu Rev Pathol*. 2016;12:25–52.

Manderson AP, Botto M, Walport MJ. The role of complement in the development of systemic lupus erythematosus. *Annu Rev Immunol*. 2004;22:431–456.

Meri S. Self-nonself discrimination by the complement system. *FEBS Lett*. 2016;590:2418–2434.

Ricklin D, Lambris JD. Complement in immune and inflammatory disorders: therapeutic interventions. *J Immunol*. 2013;190:3839–3847.

Roozendaal R, Carroll MC. Emerging patterns in complement-mediated pathogen recognition. *Cell*. 2006;125:29–32.

Funções Efetoras do Anticorpo e Receptores Fc

Bournazos S, Ravetch JV. Fcgamma receptor pathways during active and passive immunization. *Immunol Rev*. 2015;268:88–103.

Schwab I, Nimmerjahn F. Intravenous immunoglobulin therapy: how does IgG modulate the immune system? *Nat Rev Immunol*. 2013;13:176–189.

Smith KG, Clatworthy MR. FcgammaRIIB in autoimmunity and infection: evolutionary and therapeutic implications. *Nat Rev Immunol*. 2010;10:328–343.

Vidarsson G, Dekkers G, Rispens T. IgG subclasses and allotypes: from structure to effector functions. *Front Immunol*. 2014;5:520.

CAPÍTULO 14

Imunidade Especializada nas Barreiras Epiteliais e Tecidos Imunoprivilegiados

CARACTERÍSTICAS GERAIS DA IMUNIDADE NAS BARREIRAS EPITELIAIS

IMUNIDADE NO SISTEMA GASTRINTESTINAL
- Imunidade Inata no Trato Gastrintestinal
- Imunidade Adaptativa no Trato Gastrintestinal
- Regulação da Imunidade no Trato Gastrintestinal por Células T Reguladoras e Citocinas
- Tolerância Oral e Vacinas Orais
- O Papel do Microbioma Comensal na Imunorregulação
- Doenças Relacionadas com Respostas Imunes no Intestino

IMUNIDADE EM OUTROS TECIDOS DE MUCOSA
- Imunidade no Sistema Respiratório
- Imunidade no Sistema Geniturinário

SISTEMA IMUNE CUTÂNEO
- Respostas Imunes Inata e Adaptativa na Pele
- Doenças Relacionadas a Respostas Imunes na Pele

TECIDOS IMUNOPRIVILEGIADOS
- Imunoprivilégio no Olho, Cérebro e Testículo
- Imunoprivilégio do Feto de Mamífero

RESUMO

A maior parte da nossa discussão sobre a imunidade inata e a imunidade adaptativa, até esta parte do livro, abrangeu as características e os mecanismos das respostas imunes em qualquer localização anatômica no corpo de um mamífero. Entretanto, o sistema imune desenvolveu propriedades especializadas em diferentes partes do corpo, sobretudo nos tecidos de barreira epitelial. Essas características são essenciais para a proteção contra os tipos de desafios microbianos mais frequentemente encontrados nesses locais, além de também garantirem que vivamos em harmonia com os organismos comensais não patogênicos que colonizam as superfícies epiteliais da pele e os lúmens dos órgãos revestidos com mucosa (Tabela 14.1). A coleção de células imunes e moléculas que exercem funções especializadas em determinada localização anatômica em particular é chamada sistema imune regional. Este capítulo, em sua maior parte, é dedicado a uma discussão sobre esses sistemas imunes especializados. Finalizamos com uma consideração acerca de alguns tecidos que normalmente não sustentam e podem até suprimir ativamente as respostas imunes, sendo denominados tecidos imunoprivilegiados.

Tabela 14.1

Características da Imunidade Regional

Região	Características Especiais	Estruturas Anatômicas Especiais	Células ou Moléculas Especializadas: Funções
Trato Gastrintestinal	Tolerância a antígenos alimentares Tolerância à microbiota comensal, porém responsividade a patógenos raros Enorme área de superfície	Tonsilas Placas de Peyer Folículos na lâmina própria	Células epiteliais intestinais: secreção de muco Células M: amostragem de antígeno luminal Células de Paneth: produção de defensinas IgM, IgA secretórias: neutralização de microrganismos no lúmen Subpopulações de células dendríticas: amostragem de antígeno luminal; amostragem de antígeno na lâmina própria; indução de tolerância das células T; ativação de células T efetora; indução de troca de classe de IgA nas células B; *imprinting* de fenótipos de *homing* intestinal de células B e T
Sistema respiratório	Exposição à mistura de patógenos transportados pelo ar, e microrganismos e partículas inócuas	Tonsilas Adenoides	Células epiteliais respiratórias ciliadas: produção de muco e de defensinas, e movimento de muco com microrganismos e partículas capturados para fora das vias aéreas IgA, IgM e IgG secretórias: neutralização de microrganismos fora da barreira epitelial

Região	Características Especiais	Estruturas Anatômicas Especiais	Células ou Moléculas Especializadas: Funções
Sistema imune cutâneo	Ampla área de superfície	Barreira epitelial escamosa estratificada queratinizante	Queratinócitos: produção de queratina, secreção de citocinas e defensinas Células de Langerhans: amostragem de antígenos epidérmicos Subpopulações de células dendríticas: amostragem de antígeno dérmico; indução de tolerância nas células T; ativação de células T efetoras; *imprinting* de fenótipo de *homing* cutâneo em células T

Características Gerais da Imunidade nas Barreiras Epiteliais

Os sistemas imunes regionais incluem os sistemas imunes de mucosa, que protegem as barreiras de mucosa gastrintestinal, broncopulmonar e geniturinária, além do sistema imune cutâneo (pele). O sistema imune gastrintestinal é o maior e mais complexo. Por meio de duas métricas simples — número de linfócitos localizados no tecido e quantidade de anticorpos lá produzidos — o sistema gastrintestinal é maior do que todas as outras partes do sistema imune combinadas. Estima-se que a mucosa intestinal de um adulto humano contenha cerca de 50×10^9 linfócitos (Tabela 14.2). A dedicação de tantos recursos do sistema imune ao intestino reflete a ampla área de superfície da mucosa intestinal, a qual se desenvolveu não só para maximizar a função absortiva primária do tecido, mas também para resistir à invasão por trilhões de bactérias em seu lúmen. A pele também é uma barreira tecidual com uma vasta área de superfície que deve ser protegida dos microrganismos ambientais que têm acesso imediato ao revestimento externo. O número total de linfócitos na pele de um adulto é estimado em 20×10^9, cerca do dobro do número total de linfócitos circulantes (Tabela 14.2). As diferentes características físicas da mucosa (mole, úmida e quente) e da pele (firme, seca e fria) favorecem a colonização e invasão por diferentes tipos de microrganismos. Portanto, não surpreende que o sistema imune seja especializado de diferentes modos nesses dois tipos de tecidos.

Tabela 14.2

Números de Linfócitos em Diferentes Tecidos

Baço	70×10^9
Linfonodos	190×10^9
Medula óssea	50×10^9
Sangue	10×10^9
Pele	20×10^9
Intestinos	50×10^9
Fígado	10×10^9
Pulmões	30×10^9

Os sistemas imunes nas barreiras epiteliais compartilham uma organização anatômica básica, com uma camada epitelial externa que previne a invasão microbiana, um tecido conectivo subjacente contendo vários tipos celulares mediadores das respostas imunes a organismos que invadem através do epitélio, e tecidos linfoides secundários drenantes locais ou mais distantes, onde se desenvolvem as respostas imunes adaptativas aos microrganismos invasores. A barreira epitelial pode ter várias camadas de espessura, como na pele, ou apenas uma camada acentada sobre uma membrana basal, como nos intestinos. O tecido conectivo subjacente, como a derme na pele e a lâmina própria no intestino, contém numerosos linfócitos dispersos, células dendríticas (DCs, do inglês, *dendritic cells*), macrófagos e outras células mediadoras das respostas imunes inatas, além do braço efetor das respostas imunes adaptativas. Os tecidos de mucosa também contêm tecidos linfoides secundários não encapsulados, porém organizados, logo abaixo da barreira epitelial, os quais incluem linfócitos B e T, DCs e macrófagos. Essas coleções de células imunes, muitas vezes chamadas **tecido linfoide associado à mucosa (MALT, do inglês, *mucosa-associated lymphoid tissue*)**, são sítios de desenvolvimento de algumas respostas imunes adaptativas especializadas para a mucosa particular. As respostas imunes adaptativas nos sistemas imunes de barreira epitelial também são induzidas nos linfonodos drenantes localizados fora dos tecidos de barreira. Na pele e nos tecidos de mucosa, os antígenos que estão fora da barreira epitelial são amostrados por células especializadas junto ao epitélio e distribuídos aos linfonodos drenantes ou ao MALT.

Os sistemas imunes regionais contêm tipos de células e moléculas especializadas que podem não ser abundantes em outros sítios. Os tipos celulares restritos a um ou mais sistemas imunes regionais e que não estão presentes em todo o sistema imune incluem subpopulações de DCs (p. ex.: células de Langerhans na pele), células transportadoras de antígeno (p. ex.: células M no intestino), linfócitos T (p. ex.: células T $\gamma\delta$ nos epitélios), subpopulações de linfócitos B (p. ex.: plasmócitos e células B produtoras de imunoglobulina A [IgA] em tecidos de mucosa) e várias células linfoides inatas (ILCs, do inglês, *innate lymphoid cells*). As características anatômicas exclusivas e os tipos celulares em cada tecido conferem a este características funcionais especiais. Exemplificando, a amostragem de antígenos no intestino e seu transporte para os tecidos linfoides secundários contam com tipos de células e rotas de drenagem linfática que diferem daquilo que ocorre na pele ou nos órgãos internos. Além disso, as estruturas do MALT em várias regiões do intestino e em outros órgãos de mucosa exibem características distintivas.

Os linfócitos efetores gerados nos linfonodos drenantes ou no MALT de um sistema imune regional particular (p. ex.: pele e intestino delgado) entrarão no sangue e, preferencialmente, voltarão a residir no mesmo órgão (p. ex.: derme e lâmina própria, respectivamente). A migração e localização de subpopulações de linfócitos em diferentes tecidos é, em parte, resultado de mecanismos de *homing* tecido-específicos que direcionam essas subpopulações do sangue para tecidos particulares, os quais discutiremos em detalhes adiante, neste capítulo.

Os sistemas imunes regionais têm funções reguladoras importantes que servem para prevenir respostas indesejadas a microrganismos não patogênicos e substâncias estranhas que tendem a estar presentes nas diferentes barreiras. O exemplo mais claro é o sistema imune associado ao intestino, que deve suprimir as respostas às bactérias comensais colonizadoras do lúmen intestinal, bem como às substâncias alimentares estranhas, mas devem responder às bactérias patogênicas que estarão presentes em número bem menor do que as comensais. A supressão das respostas imunes aos organismos não patogênicos e às substâncias estranhas não prejudiciais também é importante em outros sítios do corpo, incluindo pele, pulmão e trato geniturinário, que não são estéreis e estão constantemente expostos ao ambiente.

Com essa introdução, discutiremos os detalhes desses vários aspectos em diferentes sistemas imunes regionais, começando pelo maior deles.

Imunidade no Sistema Gastrintestinal

O sistema gastrintestinal, assim como outros tecidos de mucosa, é composto por uma estrutura semelhante a um tubo revestida com uma camada contínua de células epiteliais assentadas sobre uma membrana basal que serve de barreira física ao ambiente externo. Subjacente ao epitélio, há uma camada de tecido conectivo frouxo chamada lâmina própria, que contém vasos sanguíneos, vasos linfáticos e MALTs (Fig. 14.1). A submucosa é uma densa camada de tecido conectivo que conecta a mucosa às camadas de músculo liso.

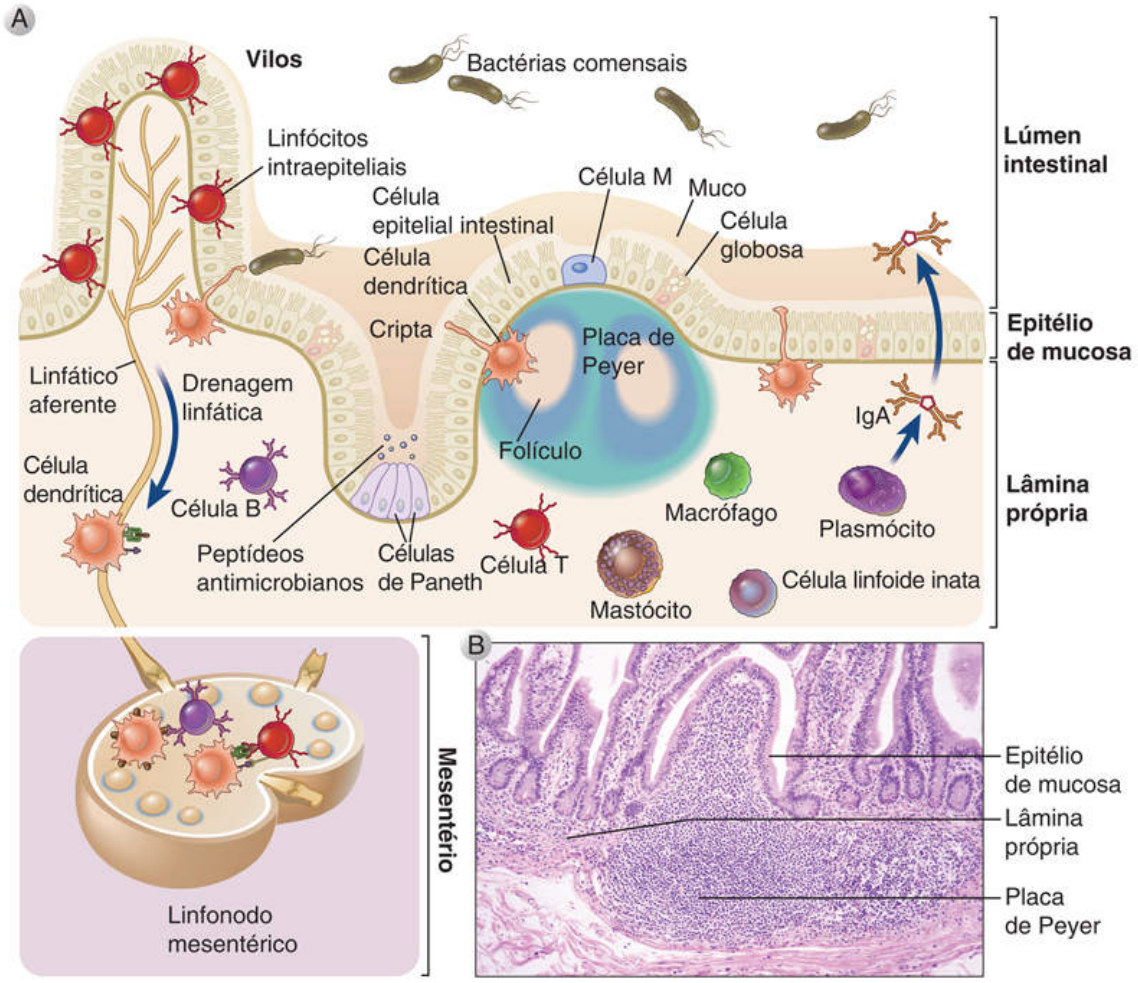


FIGURA 14.1 O sistema imune gastrintestinal.
A, Diagrama esquemático dos componentes celulares do sistema imune de mucosas no intestino. As principais características incluem uma barreira epitelial coberta de muco secretado; DCs e células M que amostram antígenos; várias células sentinela inatas e linfócitos na lâmina própria abaixo da camada epitelial; tecidos linfoides associados à mucosa organizados sob a barreira epitelial, como as placas de Peyer; linfonodos mesentéricos drenantes; e plasmócitos subepiteliais que secretam IgA, a qual é transportada para dentro do lúmen. Os detalhes da amostragem de antígenos pelas DCs e células M, a estrutura das placas de Peyer, a migração dos linfócitos por entre a mucosa e os linfonodos mesentéricos, e a secreção e transporte de IgA são todos descritos neste capítulo. **B,** Fotomicrografia de tecido linfoide de mucosa no intestino humano. Agregados similares de tecido linfoide são encontrados ao longo do trato gastrintestinal.

Da perspectiva do imunologista, o trato gastrintestinal tem duas propriedades notáveis. Primeiro, a mucosa combinada do intestino

delgado e do intestino grosso tem uma área de superfície total maior que 200 m^2 (o tamanho de uma quadra de tênis), cuja maior parte consiste em microvilos e vilos do intestino delgado. Em segundo lugar, o lúmen intestinal é repleto de microrganismos, muitos dos quais são ingeridos com a comida e a maioria dos quais está em crescimento contínuo no lúmen de indivíduos sadios, como comensais. Estima-se que mais de 500-1.000 espécies diferentes de bactéria, somando aproximadamente 10^{14} células, vivam no intestino de um mamífero — quase igual ao número total de todas as células humanas existentes no corpo, ou cerca de 10 vezes maior que o número de células nucleadas humanas existentes no corpo (cerca de 90% das células humanas são hemácias anucleadas). Existem cerca de 600 mil genes no microbioma intestinal humano, equivalente a 30 vezes mais do que o número total de genes no genoma humano. Essas proporções levaram os microbiologistas a destacar o fato de que nós, na verdade, somos mais seres bacterianos do que seres humanos! Evoluímos para depender desses comensais em diversas funções, incluindo a degradação de componentes da nossa dieta que as nossas próprias células não conseguem digerir. Esses comensais também competem com microrganismos potencialmente patogênicos no intestino e previnem infecções perigosas. Embora os organismos comensais seja benéficos quando ficam contidos no lado externo da barreira da mucosa intestinal, tornam-se potencialmente lesivos quando atravessam essa barreira e entram na circulação ou atravessam a parede intestinal, sobretudo em indivíduos imunocomprometidos. Além disso, a qualquer momento, os organismos patogênicos não comensais podem se tornar parte da diversificada mistura de organismos que constituem a flora intestinal, se forem ingeridos em alimentos ou água contaminados. Esses organismos patogênicos, incluindo bactérias, vírus, protozoários e parasitas helmínticos, podem causar doença significativa, mesmo que representem uma fração mínima dos microrganismos presentes no lúmen intestinal. Para que a saúde seja mantida, o sistema imune das mucosas deve ser capaz de reconhecer e eliminar esses patógenos numericamente raros na presença de grandes números de microrganismos não patogênicos.

Esses desafios foram vencidos graças à evolução de um complexo conjunto de mecanismos efetores e estratégias de imunorreconhecimento inatas e adaptativas. De modo geral, a imunidade intestinal nos protege contra as infecções ao mesmo tempo em que permite a persistência dos microrganismos comensais. O intestino previne infecções de três modos principais:

1. A presença de uma espessa camada de muco no epitélio intestinal que afasta a maior parte dos microrganismos presentes no lúmen.
2. Peptídeos antibióticos produzidos pelas células epiteliais intestinais, os quais matam patógenos presentes no lúmen ou diminuem sua entrada no epitélio.
3. IgA produzida por plasmócitos na lâmina própria, a qual é transportada para dentro do lúmen e neutraliza os patógenos antes que possam entrar através do epitélio.

Somente alguns dos mecanismos que estão por trás do equilíbrio entre defesa imune contra patógenos intestinais *versus* tolerância aos alimentos e comensais são bem conhecidos. Infelizmente, as infecções intestinais por organismos patogênicos frequentemente não são controladas pela imunidade de mucosa e se tornam responsáveis por milhões de mortes a cada ano em todo o mundo. Muitas das características do sistema imune gastrintestinal são compartilhadas por outros tecidos de mucosa e nós destacaremos essas características comuns da imunidade de mucosa.

Imunidade Inata no Trato Gastrintestinal

As células epiteliais intestinais que revestem os intestinos delgado e grosso são parte integral do sistema imune inato gastrintestinal, envolvidas nas respostas aos patógenos e amostragem de antígeno para distribuição ao sistema imune adaptativo no intestino. Existem vários tipos diferentes de células epiteliais intestinais, todas derivadas de um precursor comum encontrado nas criptas das glândulas intestinais. Entre estas, estão as células caliciformes secretoras de muco, residentes no ápice dos vilos intestinais; as células M que fazem a amostragem de antígeno, encontradas nas estruturas em forma de cúpula especializadas que recobrem os tecidos linfoides; e células de Paneth secretoras de peptídeos antibacterianos, encontradas no fundo das criptas (Fig. 14.1). Todos esses tipos celulares contribuem de diferentes modos para a função de barreira da mucosa, conforme veremos adiante.

A imunoproteção inata no intestino é mediada em parte pelas barreiras físico-químicas fornecidas pelas células epiteliais mucosas e suas secreções de muco. As células epiteliais intestinais adjacentes são unidas por proteínas que formam as *tight junctions* (ou zonas de oclusão), as quais bloqueiam o movimento dos microrganismos entre as células para dentro da lâmina própria. Em adição, as células epiteliais mucosas produzem substâncias antimicrobianas, incluindo defensinas (Capítulo 4). Vários

tipos de células localizadas na mucosa, incluindo as células epiteliais, DCs, macrófagos e ILCs, são capazes de montar respostas inflamatórias e antivirais. A maioria dessas respostas é induzida pelo engajamento do receptor de reconhecimento de padrão aos ligantes microbianos, discutidos no Capítulo 4.

Várias proteínas extensivamente glicosiladas distintas, chamadas mucinas, são secretadas pelas células caliciformes e formam uma barreira física viscosa que impede os microrganismos de entrar em contato com o revestimento epitelial do trato gastrintestinal. As mucinas contêm muitos oligossacarídeos O-ligados diferentes e incluem glicoproteínas de superfície celular e secretadas. A maior parte da camada de muco intestinal é composta de MUC2, que forma um gel hidratado cuja espessura varia de 300-700 μm de espessura. No intestino delgado, o muco forma uma camada única, e a maioria das bactérias é encontrada na direção da porção externa dessa camada. Sendo assim, as bactérias raramente entram em contato direto com as células epiteliais do intestino delgado, exceto nas extremidades dos vilos que se estendem na direção do topo da camada de muco. Em contraste, a mucosa colônica tem duas camadas: uma camada externa menos densa e colonizada por bactérias, e uma camada interna mais densa presa ao epitélio e livre de bactérias. Essas camadas de muco também servem de matriz para exibição de substâncias microbianas produzidas pelas células epiteliais. Algumas mucinas atuam como moléculas decodificadoras que podem ser liberadas das células epiteliais e se ligarem às proteínas adesinas usadas pelas bactérias patogênicas para se fixarem às membranas da célula hospedeira. Além do muco secretado, a superfície apical das células epiteliais gastrintestinais é coberta com proteínas mucinas ligadas à membrana, as quais se combinam a vários glicolipídeos para formar o glicocálice. Trata-se de uma densa camada macromolecular na superfície celular epitelial, cuja espessura varia de 30 a 500 nm conforme a localização junto ao intestino. O glicocálice, assim como o muco secretado, atua como uma barreira física para prevenir o contato microbiano.

A barreira mucosa do intestino sofre renovação e alterações químicas em resposta a diversos sinais ambientais e imunes, e isso permite que ocorram amplificações rápidas na função de barreira da mucosa. As mucinas são constitutivamente produzidas por células caliciformes no epitélio gastrintestinal e pelas glândulas da submucosa. São substituídas por moléculas recém-sintetizadas a cada 6-12 horas, e muitos litros de muco são secretados diariamente no intestino adulto. Vários estímulos imunes e ambientais podem induzir aumentos drásticos na produção de

mucina. Esses estímulos incluem as citocinas (IL-1, IL-4, IL-6, IL-9, IL-13, fator de necrose tumoral [TNF, do inglês, *tumor necrosis factor*] e interferons do tipo I), produtos de neutrófilos (como a elastase) e proteínas de adesão microbianas. Esses estímulos não só aumentam a expressão gênica da mucina como também alteram sua glicosilação, devido às alterações induzidas na expressão de enzimas glicosiltransferases. Acredita-se que as alterações na quantidade e na glicosilação das mucinas intensifique a função de barreira contra patógenos.

As defensinas produzidas pelas células epiteliais intestinais conferem proteção imune inata contra bactérias luminais. As defensinas são peptídeos produzidos por vários tipos celulares no corpo, que exercem efeitos tóxicos letais em microrganismos por inserirem e causarem perda da integridade de suas membranas fosfolipídicas externas (Capítulo 4). No intestino delgado, as principais defensinas são as α-defensinas, incluindo as defensinas humanas 5 (HD5) e 6 (HD6), produzidas de maneira constitutiva como proteínas precursoras pelas células de Paneth localizadas na base das criptas existentes entre os microvilos. Os peptídeos HD5 e HD6 ativos são gerados por clivagem proteolítica mediada pela tripsina, também produzida pelas células de Paneth. No cólon, as β-defensinas são produzidas por células epiteliais de absorção, nas criptas intestinais, algumas de modo constitutivo e outras em resposta à IL-1 ou a bactérias invasivas. Adicionalmente, os grânulos neutrofílicos são ricos em α-defensinas que tendem a contribuir para suas funções antimicrobianas no contexto das infecções da parede intestinal. Vários estudos identificaram defeitos na produção de defensina pelas células epiteliais nas regiões intestinais afetadas pela doença de Crohn, mas ainda não está claro se uma diminuição nas defensinas contribui para o desenvolvimento da doença ou se é uma consequência de inflamação intestinal.

As células de Paneth e outras células epiteliais do intestino também secretam lectinas do tipo C chamadas proteínas regeneradoras ilhota-derivadas (REGIII), que bloqueiam a colonização bacteriana da superfície epitelial. REGIIIγ em camundongos e seu homólogo REGIIIα em seres humanos se ligam ao peptidoglicano de bactérias Gram-positivas e produzem efeitos bactericidas.

Os receptores do tipo* Toll *(TLRs, do inglês,* Toll-like receptors*) e os receptores citoplasmáticos tipo NOD (NLRs, do inglês,* nucleotide oligomerization domain*) expressos nas células epiteliais intestinais promovem respostas imunes a patógenos invasores, mas também limitam as respostas inflamatórias dirigidas a bactérias comensais. Conforme discutimos no Capítulo 4, TLRs e NLRs são receptores celulares que

reconhecem padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs, do inglês, *pathogen-associated molecular patterns*) produzidos por microrganismos, e geram sinais promotores de respostas celulares inflamatórias e antivirais. A maioria das bactérias luminais do intestino são não patogênicas se forem retidas fora da barreira epitelial, ainda que expressem o mesmo conjunto de PAMPs que as bactérias patogênicas, como lipopolissacarídeo, peptidoglicanos, CpG DNA e flagelina. As células epiteliais intestinais expressam uma ampla gama de TLRs, incluindo TLRs 2, 4, 5, 6, 7 e 9, com diferentes receptores expressos em diferentes regiões do intestino. A ligação de alguns TLRs resulta na fosforilação e reorganização de proteínas da *tight junction*, aumentando a força das junções entre as células epiteliais. A sinalização do TLR também aumenta a motilidade e proliferação epitelial intestinal, além de estimular a secreção de defensinas, lectinas REGIII e IgA, que impedem a transgressão bacteriana da barreira.

Como as respostas inflamatórias que envolvem as células epiteliais podem comprometer a função da barreira e levar à invasão bacteriana e à inflamação patológica, não surpreende que rigorosos mecanismos de controle tenham se desenvolvido para limitar as respostas imunes inatas. As respostas dos TLR no intestino parecem ser reguladas em parte pelos níveis de expressão ou expressão compartimentalizada apenas em certos locais. O TLR5, por exemplo, que reconhece as flagelinas bacterianas, é expresso exclusivamente na superfície basolateral das células epiteliais intestinais, onde será acessível somente às bactérias que tiverem invadido através da barreira. Similarmente, os receptores de flagelina da família NLR (p. ex.: NAIP) são expressos no citosol das células epiteliais intestinais e ativarão respostas inflamatórias apenas quando bactérias patogênicas ou seus produtos ganharem acesso ao citosol. Há ainda evidência de que os reguladores da sinalização de TLR no interior das células epiteliais intestinais mantêm um limiar mais alto para a ativação de respostas inflamatórias, em comparação ao observados nas células epiteliais e DCs em outros tecidos.

Em indivíduos sadios, as DCs e os macrófagos na lâmina própria do intestino inibem a inflamação e mantêm a homeostasia. Alguns macrófagos intestinais exibem um fenótipo único que lhes permite fagocitar e matar microrganismos, ao mesmo tempo em que secretam citocinas anti-inflamatórias, como a IL-10. Esse fenótipo aparentemente é induzido no ambiente de mucosa local, pela ação do fator de transformação do crescimento-β (TGF-β). A expressão de TLR4 em macrófagos e DCs na lâmina própria é menor do que em outros tecidos,

enquanto a expressão de genes inflamatórios nessas células frequentemente é inibida por produtos microbianos. Este pode ser um mecanismo que se desenvolveu para prevenir a inflamação danosa em resposta a bactérias comensais e produtos bacterianos que atravessam a barreira epitelial.

As ILCs presentes na mucosa intestinal contribuem para a defesa imune contra bactérias e parasitas, promovem a função de barreira epitelial e suprimem as respostas às bactérias comensais. As ICLs não expressam receptores antigênicos de células T (TCRs, do inglês, *T cell receptors*), mas respondem a sinais de citocina locais secretando citocinas efetoras. Além disso, subpopulações de ILCs secretam citocinas típicas de subpopulações de células T auxiliares (Capítulos 2 e 4). Algumas das citocinas ativadoras de ILCs são referidas como alarminas, porque são liberadas por células epiteliais em resposta a lesão ou microrganismos, como um alarme destinado às células imunes inatas. A maioria das ICL3s existentes no corpo são encontradas no intestino. Em resposta à IL-1β (uma alarmina) e à IL-23, as ILC3s secretam IL-17 e IL-22. A IL-17 promove resposta inflamatória aguda aos microrganismos e ambas, IL-17 e IL-22, intensificam a função de barreira da mucosa intestinal, estimulando a produção de defensinas e intensificando a função da *tight junction* epitelial. Estudos realizados com camundongos mostram que as ILC2s exercem um importante papel inicial na imunidade inata intestinal contra helmintos. Em resposta à citocina alarmina IL-33 liberada por células epiteliais estressadas ou danificadas e à citocina IL-25 derivada do epitélio, as ILC2s secretam IL-5 e IL-13. A IL-5 ativa eosinófilos que secretam enzimas que degradam o tegumento externo dos helmintos, enquanto a IL-13 aumenta a produção de muco, contribuindo para a expulsão dos vermes. Um tipo de célula epitelial intestinal especializada, chamada célula em tufo é ativada por helmintos a secretar IL-25 em abundância, e isso estimula as ILC2s a secretarem IL-13 que, por sua vez, estimula a diferenciação de células caliciformes secretoras de muco, bem como de mais células em tufo, a partir das células-tronco localizadas nas criptas intestinais.

As células T invariantes associadas à mucosa (MAIT, do inglês, *mucosal-associated invariant T cells*) tendem a contribuir para a defesa contra bactérias e fungos que rompem a barreira intestinal e entram na circulação sanguínea. A maioria das células MAIT humanas estão no fígado e, assim, estão em posição de responder aos microrganismos que lá chegam oriundos do intestino, via circulação porta. Essas células são descritas no Capítulo 10.

Imunidade Adaptativa no Trato Gastrintestinal

O sistema imune adaptativo no trato gastrintestinal tem características distintas daquelas dos sistemas imunes adaptativos em outros órgãos.

- ***A principal forma de imunidade adaptativa no intestino é a imunidade humoral dirigida aos microrganismos no lúmen.*** Essa função é mediada principalmente por anticorpos IgA diméricos secretados no lúmen intestinal ou, no caso dos bebês em fase de amamentação, a IgA secretada no colostro e no leite materno e ingerida pelo bebê. O anticorpo no lúmen impede que os comensais e patógenos colonizem e invadam cruzando a barreira epitelial mucosa.
- ***A dominância da IgA nas secreções mucosas, especialmente no intestino, é em virtude do fato de as células B ativadas nesses sítios tenderem a sofrer troca de classe para IgA, e as células B produtoras de IgA tenderem a residir no intestino.*** Posteriormente, discutiremos os mecanismos subjacentes a esses dois aspectos das células B de mucosa.
- ***As respostas imunes celulares protetoras contra microrganismos no intestino são mediadas por células T auxiliares.*** As células Th17 constituem a subpopulação de células T efetoras mais numerosa na mucosa intestinal, porém as células Th1 e Th2 também estão presentes.
- ***Um dos principais mecanismos para controlar as reações inflamatórias no intestino é a ativação das células T reguladoras (Tregs).*** Em nenhum outro lugar no corpo há um comprometimento tão extensivo do sistema imune com a manutenção da tolerância a antígenos estranhos, incluindo os antígenos alimentares e os antígenos microbianos comensais. As subpopulações de Treg produtoras de IL-10 são mais abundantes no MALT do que nos demais órgãos linfoides.

Agora, discutiremos as características especiais da imunidade adaptativa no sistema gastrintestinal, incluindo a organização anatômica, amostragem de antígeno, *homing* e diferenciação de linfócitos, e distribuição de anticorpo para o lúmen.

Anatomia Funcional do Sistema Imune Adaptativo no Trato Gastrintestinal

As respostas imunes adaptativas no intestino são iniciadas em coleções discretamente organizadas de linfócitos e células apresentadoras de antígeno em estreita associação com o revestimento epitelial de mucosa do intestino e nos linfonodos mesentéricos (Fig. 14.1). Os linfócitos *naive* são expostos aos antígenos nesses sítios e se diferenciam em células efetoras. Esses tecidos linfoides associados ao intestino adjacentes ao epitélio de mucosa por vezes são referidos como GALT, que é a versão gastrintestinal do MALT, embora os termos sejam usados com frequência como sinônimos. As estruturas mais proeminentes do GALT são as **placas de Peyer**, encontradas sobretudo no íleo distal, porém existem muitos agregados menores de folículos linfoides ou folículos isolados no apêndice e no cólon. As placas de Peyer têm a estrutura de folículos linfoides, com centros germinativos contendo linfócitos B, células T auxiliares foliculares, células dendríticas foliculares e macrófagos. Os centros germinativos nos folículos estão circundados por células B foliculares *naive* expressando IgM e IgD. Uma região chamada cúpula (*dome*) está localizada entre os folículos e o epitélio sobrejacente, e contém linfócitos B e T, DCs e macrófagos. Entre os folículos, estão as áreas parafoliculares ricas em células T, similares aos linfonodos, embora de modo geral a razão células B/células T no GALT seja cerca de 5 vezes maior do que nos linfonodos. Diferentemente dos linfonodos, as estruturas do GALT não são encapsuladas e o antígeno é distribuído diretamente a essas estruturas, de modo independente dos linfáticos. O desenvolvimento de ambas, estruturas linfoides especializadas (p. ex.: placas de Peyer) e folículos isolados na lâmina própria intestinal, requer células indutoras de tecido linfoide, as quais constituem uma subpopulação de ILC3s produtoras da citocina linfotoxina-β (LT-β).

Uma das principais vias de distribuição de antígeno a partir do lúmen para o GALT é por meio de células especializadas junto ao epitélio intestinal, chamadas células de micropregas (M) (Fig. 14.2). As células M estão localizadas em regiões do epitélio intestinal chamadas epitélio folículo-associado (ou cúpula), que se sobrepõem às cúpulas das placas de Peyer e outras estruturas do GALT. Embora as células M e as células epiteliais absortivas mais numerosas provavelmente surjam de um precursor epitelial comum, as células M são distinguíveis por um glicocálice delgado, microvilos irregulares relativamente curtos (referidos como micropregas), e amplas fenestrações em suas membranas — todas características que aumentam a captação de antígenos a partir do lúmen intestinal. Em adição, o epitélio folículo-associado onde as células M estão localizadas exibem características distintas daquelas do epitéliode

absorção, as quais promovem estreita associação com os antígenos microbianos luminais, incluindo uma escassez de células caliciformes secretoras de muco e de células de Paneth secretoras de defensina, bem como capacidade diminuída de transportar IgA para dentro do lúmen. A principal função das células M é o transporte transcelular de várias substâncias desde o lúmen intestinal, através da barreira epitelial e para as células apresentadoras de antígeno subjacentes. As células M captam os conteúdos luminais de modo eficiente e diversificado, realizando fagocitose de modo semelhante ao realizado pelos macrófagos, além de endocitose de vesículas cobertas com clatrina ou endocitose de fase fluída. As células M expressam várias moléculas de superfície que se ligam a estruturas microbianas e medeiam sua captação; um exemplo é a glicoproteína 2, que se liga às fímbrias (*pili*) do tipo I presentes em bactérias Gram-negativas, no intestino, e medeia a captação e distribuição dessas bactérias às placas de Peyer. As vias permitem a captação de bactérias inteiras, vírus e produtos microbianos solúveis. Diferente dos macrófagos ou DCs, as células M não se engajam em um extensivo processamento das substâncias que englobam, em vez disso movimentam as partículas e moléculas através de vesículas endocíticas ao longo do citosol e as distribuem por exocitose à membrana basolateral para as DCs ou células B nas regiões de cúpula das placas de Peyer e folículos linfoides subjacentes na lâmina própria. Embora as células M exerçam papel importante na imunidade protetora aos microrganismos luminais, alguns microrganismos evoluíram para tirar vantagem das células M como uma rota de invasão através da barreira de mucosa. O melhor exemplo descrito é *Salmonella typhimurium*, que é similar ao patógeno humano *Salmonella typhi*, causador da febre tifoide. As células M expressam lectinas que permitem a essas bactérias se ligarem de modo específico e serem internalizadas. As bactérias são tóxicas para as células M, produzindo hiatos no epitélio que promovem a invasão de mais organismos. As lectinas das células M também podem ser usadas por certos vírus entéricos, para romper a barreira epitelial.

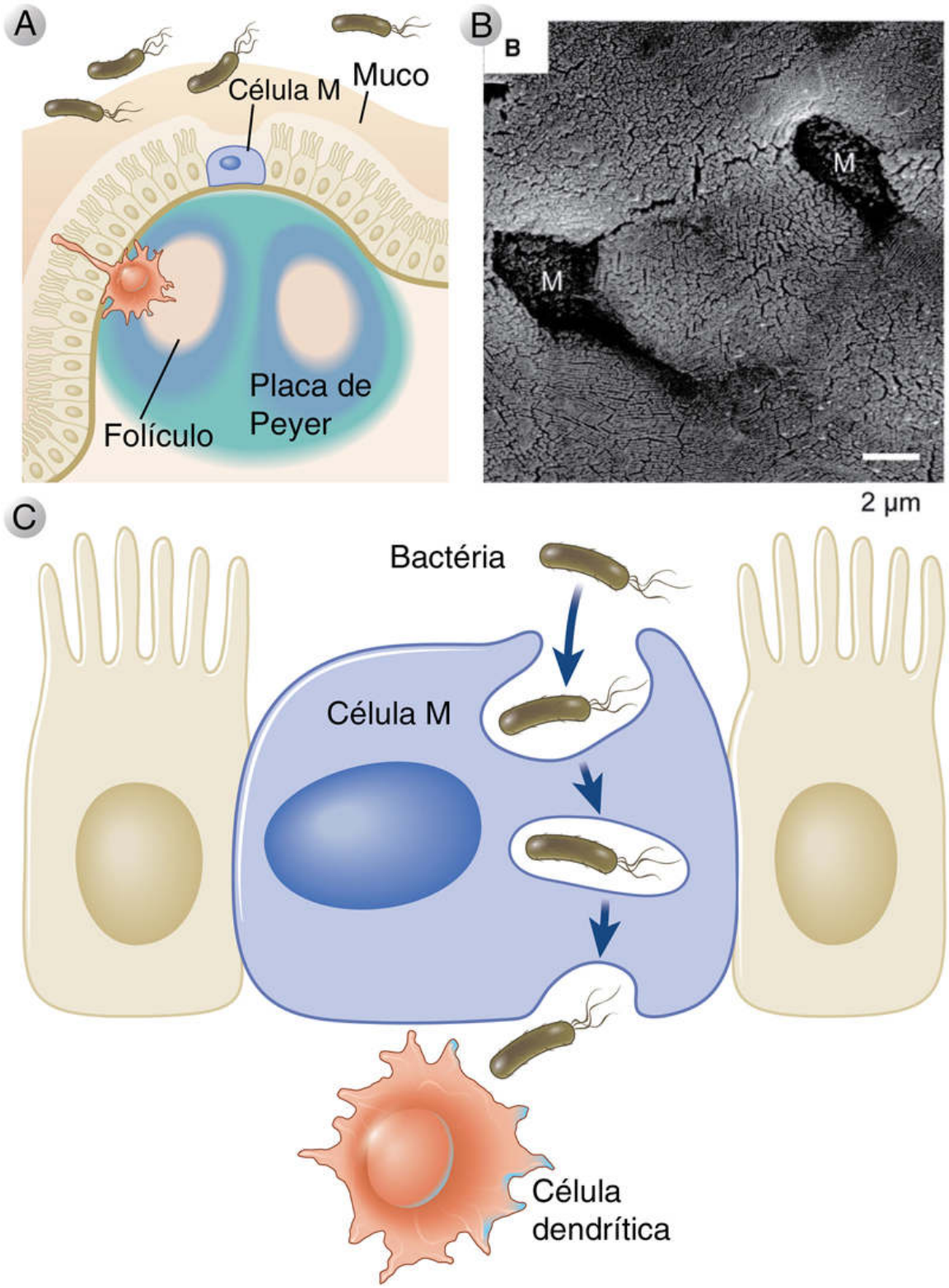


FIGURA 14.2 Células M no intestino delgado.
As células M são células epiteliais intestinais especializadas encontradas no epitélio do intestino delgado recobrindo as placas de Peyer e os folículos linfoides da lâmina própria **(A)**. Diferente das

células epiteliais vizinhas dotadas de bordas com microvilos altos e funções primárias de absorção, as células M têm vilos mais curtos. Parecem estar imersas nas proximidades das células epiteliais absortivas na imagem de microscopia eletrônica de varredura mostrada em **(B)**. As células M se engajam no transporte de microrganismos intactos ou moléculas ao longo da barreira mucosa e para dentro dos tecidos linfoides associados ao intestino, onde são entregues para as células dendríticas **(C)**. (Micrografia eletrônica de Ohno H: Intestinal M cells, *Journal of Biochemistry* 159:151–160, 2016.)

Os linfonodos mesentéricos coletam antígenos originados na linfa a partir dos intestinos delgado e grosso e são sítios de diferenciação de linfócitos efetores e reguladores que retornam para residir na lâmina própria. Existem 100-150 desses linfonodos no mesentério. Os linfonodos mesentéricos exercem algumas das funções do GALT, incluindo a diferenciação de células B em plasmócitos secretores de IgA e o desenvolvimento de células T efetoras, bem como de células T reguladoras. As células que se diferenciam nos linfonodos mesentéricos em resposta à invasão da parede intestinal por patógenos ou comensais muitas vezes residem na lâmina própria (discutido posteriormente).

As tonsilas lingual e palatina são estruturas linfoides não encapsuladas localizadas embaixo da mucosa epitelial escamosa estratificada, na base da língua e orofaringe, respectivamente, e são sítios de respostas imunes aos microrganismos na cavidade oral. Essas tonsilas, junto com as tonsilas nasofaríngeas (também chamadas adenoides), formam um anel de tecidos linfoides chamado anel de Waldeyer. A massa de tecido tonsilar é composta por folículos linfoides, geralmente com centros germinativos proeminentes. As tonsilas lingual e palatina estão separadas da cavidade oral rica em microrganismos por múltiplas camadas de células epiteliais escamosas, em vez de uma única camada celular epitelial separando o lúmen intestinal dos demais tecidos de GALT. Existem numerosas invaginações estreitas e profundas na superfície do epitélio escamoso, chamadas criptas, que crescem para dentro do tecido folicular tonsilar. As tonsilas lingual e palatina respondem às infecções da mucosa epitelial com respostas significativamente aumentadas e vigorosas de anticorpos IgA. As infecções típicas, associadas ao crescimento tonsilar, geralmente em crianças, são causadas por estreptococos e pelo vírus Epstein-Barr.

Os linfócitos efetores gerados no GALT e nos linfonodos mesentéricos são marcados com propriedades seletivas de* homing *intestinal dependente de receptores de integrina e de quimiocina, e circulam a partir do sangue de volta para dentro da lâmina própria do intestino (Fig. 14.3).

As funções do sistema imune gastrintestinal dependem de um grande número de células T e células secretoras de anticorpo capazes de responder rapidamente aos patógenos. Células T efetoras e células B secretoras de IgA adquirem, ambas, esse fenótipo de *homing* intestinal devido às alterações nas moléculas de adesão e receptores de quimiocinas adquiridos durante a ativação do linfócito no GALT ou nos linfonodos drenantes. A principal integrina nos linfócitos B e T residentes no intestino é $\alpha_4\beta_7$, que se liga à proteína MadCAM-1 expressa nas células endoteliais de vênulas pós-capilares na lâmina própria intestinal. O *homing* intestinal requer a expressão do receptor de quimiocina CCR9 em linfócitos B e T, bem como de seu ligante, a quimiocina CCL25, produzida pelas células epiteliais intestinais. A expressão combinada de MadCAM-1 no endotélio e de CCL25 nos tecidos é restrita ao intestino. O *homing* de células produtoras de IgA para o cólon também requer expressão de CCR10 e da quimiocina CCL28, mas essa não é uma via intestino-específica, porque o CCL28 é expresso por células epiteliais em outros tecidos de mucosa, como o pulmão e o trato geniturinário. Anticorpos monoclonais bloqueadores específicos para a cadeia α_4 de $\alpha_4\beta_7$ foram usados no tratamento de pacientes com enteropatia inflamatória (EI), com base no conhecimento de que as células T efetoras usam essa integrina para entrar nos tecidos intestinais durante essa doença. (Discutiremos a EI adiante, ainda neste capítulo.)

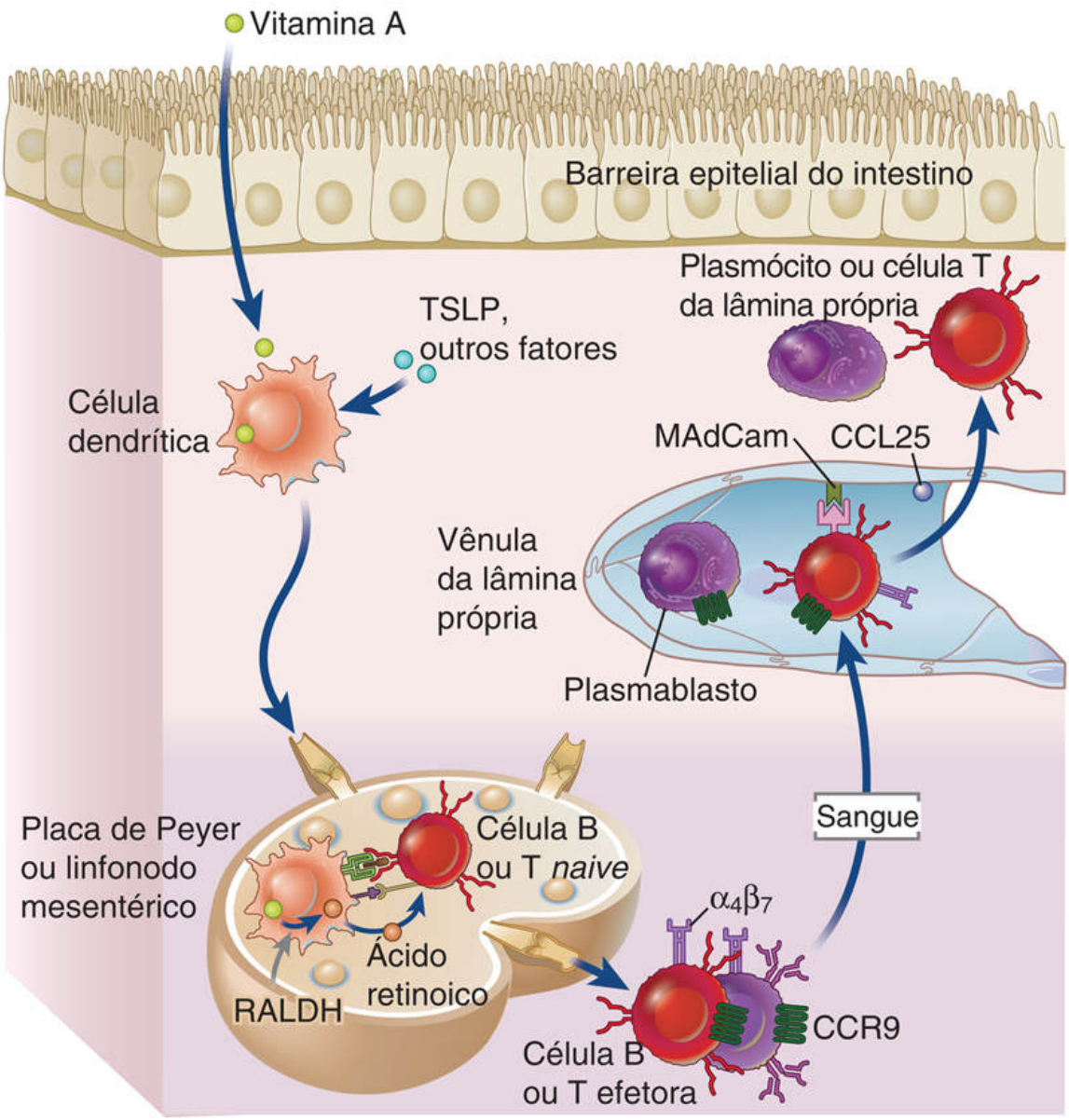


FIGURA 14.3 Propriedades de *homing* de linfócitos intestinais. As propriedades de *homing* de linfócitos efetores no intestino são impressas nos tecidos linfoides, onde estas células sofrem diferenciação a partir de precursores *naive*. As células dendríticas nos tecidos linfoides associados ao intestino, incluindo as placas de Peyer e linfonodos mesentéricos, são induzidas por TSLP e outros fatores a expressarem RALDH, que converte vitamina A da dieta em ácido retinoico. Quando as células T ou B *naive* são ativadas pelo antígeno no GALT, são expostas ao ácido retinoico produzido pelas células dendríticas, e isso induz a expressão do receptor de quimiocina CCR9 e da integrina $\alpha_4\beta_7$ nos plasmócitos e células T efetoras que surgem a partir dos linfócitos *naive*. Os linfócitos efetores entram na circulação e se alojam de volta no interior da

lâmina própria intestinal, porque a quimiocina CCL25 (ligante do CCR9) e a molécula de adesão MadCAM (ligante de $\alpha_4\beta_7$) são exibidas nas células endoteliais venulares da lâmina própria. *MadCAM*, do inglês, *mucosal addressin cell adhesion molecule*; *RALDH*, do inglês, *retinaldehyde dehydrogenase*; *TSLP*, do inglês, *thymic stromal lymphopoietin*.

O fenótipo de* homing *intestinal das células B produtoras de IgA e das células T efetoras é imprimido pelas DCs, por meio da ação do ácido retinoico durante o processo de ativação da célula T (Fig. 14.4). Além de promover a diferenciação das células T *naive* em células T efetoras e a diferenciação das células B *naive* em células secretoras de anticorpo IgA (discutido adiante), as DCs no GALT e nos linfonodos mesentéricos também fornecem sinais que levam à expressão de integrina $\alpha_4\beta_7$ e CCR9 nas células efetoras. A indução das moléculas de *homing* depende da secreção de ácido retinoico pelas DCs. Os tecidos linfoides intestinais são expostos à vitamina A da dieta, enquanto as DCs no GALT e linfonodos periféricos expressam retinaldeído desidrogenase (RALDH), a enzima necessária para a síntese de ácido retinoico a partir da vitamina A. As DCs em outros tecidos não expressam essa enzima. Adicionalmente, as células epiteliais intestinais expressam RALDH e podem sintetizar ácido retinoico. O modo como o ácido retinoico induz expressão de moléculas de *homing* intestinal é desconhecido. Consistente com essas propriedades do sistema imune intestinal, sabe-se que a vacinação oral favorece a expansão das células B produtoras de IgA residentes no intestino, em comparação ao observado com a imunização intradérmica.

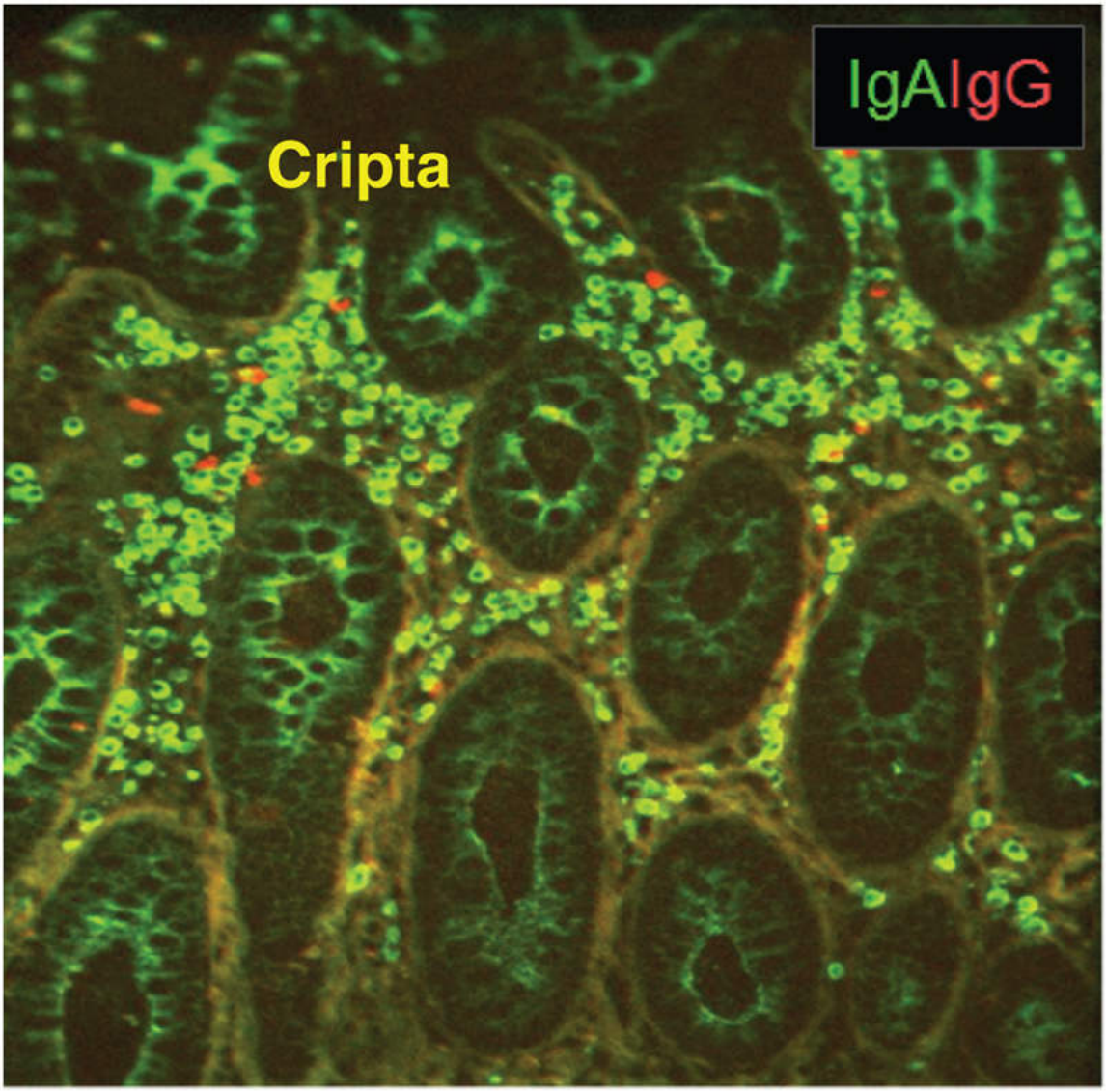


FIGURA 14.4 Plasmócitos secretores de IgA no intestino. A abundância de plasmócitos produtores de IgA *(verde)* na mucosa do cólon, em comparação às células secretoras de IgG *(vermelho)* é mostrada na marcação por imunofluorescência. A IgA que está sendo secretada pode ser vista na forma de citoplasma verde, nas células epiteliais da cripta. (De Brandtzaeg P: The mucosal imune system and its integration with the mammary glands. *The Journal of Pediatrics* 156[Suppl 1]:S8–S16, 2010.)

A lâmina própria contém linfócitos efetores, DCs e macrófagos difusamente distribuídos, além de ser o sítio da fase efetora das respostas imunes adaptativas gastrintestinais. Como discutido anteriormente, os linfócitos efetores gerados nas placas de Peyer, em outras estruturas do GALT e nos linfonodos mesentéricos voltam a residir na lâmina própria.

Neste local, as células T podem responder aos patógenos invasores, e as células B podem secretar anticorpos que são transportados para dentro do lúmen e neutralizam patógenos antes que estes invadam o tecido.

Imunidade Humoral no Trato Gastrintestinal

A principal função da imunidade humoral no trato gastrintestinal é neutralizar microrganismos luminais, e essa função é mediada principalmente pela IgA produzida na lâmina própria e transportada ao longo do epitélio da mucosa para o lúmen. Quantidades menores de IgG e IgM também são secretadas dentro do lúmen. Junto ao lúmen, os anticorpos se ligam aos microrganismos e toxinas e os neutralizam impedindo-os de se ligar às células do hospedeiro. Essa forma de imunidade humoral por vezes é chamada imunidade secretora e evoluiu até se tornar particularmente proeminente em mamíferos. Estudos realizados com camundongos indicam que as respostas de IgA são feitas para antígenos expressos apenas em uma pequena fração de todas as espécies comensais presentes no intestino, as quais são em grande parte bactérias que ficam no intestino delgado e não no cólon. Além de se ligarem especificamente aos microrganismos, as glicanas no componente secretor da IgA (discutido adiante) podem se ligar às bactérias e diminuir sua motilidade, impedindo-as assim de atingir a barreira epitelial. As respostas de anticorpo aos antígenos encontrados via ingesta são tipicamente dominadas por IgA, e a imunidade secretora é o mecanismo de proteção induzido pelas vacinas orais, como a vacina contra a pólio.

A IgA é produzida em quantidades maiores do que qualquer outro isotipo de anticorpo. Estima-se que um adulto normal pesando 70 kg secrete cerca de 2 g de IgA por dia, o que equivale a 60-70% da produção total de anticorpos. Essa tremenda produção de IgA se deve ao amplo número de plasmócitos produtores de IgA presentes no GALT, o qual representa 80% de todos os plasmócitos produtores de anticorpo existentes no corpo, conforme sugerem algumas estimativas (Fig. 14.4). Como a síntese de IgA ocorre principalmente no tecido linfoide de mucosa, e a maior parte da IgA localmente produzida é eficientemente transportada para dentro do lúmen da mucosa, esse isotipo constitui menos de ¼ dos anticorpos presentes no plasma e é um componente minoritário da imunidade humoral sistêmica, se comparado à IgG.

Várias propriedades exclusivas do ambiente intestinal resultam no desenvolvimento seletivo de células secretoras de IgA que permanecem no trato gastrintestinal ou, se entrarem na circulação, alojam-se de volta na

lâmina própria dos intestinos. O resultado é que as células secretoras de IgA se acumulam de maneira eficiente nas proximidades do epitélio que irá captar a IgA secretada e transportá-la para dentro do lúmen.

A abundância de plasmócitos intestinais produtores de IgA é devido, em parte, à indução seletiva da troca do isotipo IgA nas células B presentes no GALT e nos linfonodos mesentéricos. A troca de classe de IgA no intestino pode se dar por mecanismos T-dependentes ou T-independentes (Fig. 14.5). Estudos realizados em camundongos sugerem que a maior parte da IgA secretada no lúmen é produzida via mecanismos T-independentes. Em ambos os casos, as moléculas que dirigem a troca de IgA incluem uma combinação de citocinas solúveis e proteínas de membrana em outros tipos celulares, as quais se ligam a receptores sinalizadores presentes em células B (Capítulo 12). O TGF-β, principal citocina requerida para a troca do isotipo IgA no intestino e em outros compartimentos de mucosa, é produzido por células epiteliais intestinais e DCs no GALT. Além disso, as DCs no GALT expressam a integrina $\alpha_v\beta_8$, requerida para a ativação do TGF-β. Várias moléculas promotoras de troca de classe IgA são expressas pelas células epiteliais intestinais ou DCs no GALT, em resposta à sinalização do TLR, e as bactérias comensais presentes no lúmen intestinal produzem ligantes que se ligam a TLRs relevantes. Exemplificando, a troca de IgA e IgG T-independente requer ligação de uma citocina da família do TNF, APRIL (um ligante indutor de proliferação), ao receptor TACI (do inglês, *transmembrane activator and CAML interactor*) nas células B, sendo que as células epiteliais intestinais produzem APRIL em resposta aos ligantes de TLR produzidos por bactérias comensais. As células epiteliais intestinais também produzem lisofosfopoietina estromal tímica (TSLP, do inglês, *thymic stromal lymphopoietin*) em resposta aos sinais de TLR, e a TSLP estimula a produção adicional de APRIL pelas DCs do GALT. Os ligantes de TLR produzidos por bactérias comensais no intestino também aumentam a expressão de óxido nítrico sintase induzível em DCs, levando à produção de óxido nítrico. Acredita-se que o óxido nítrico promova troca de classe IgA T-dependente e T-independente. Por fim, a produção de IgA pela célula B intestinal é, ao menos parcialmente, dependente de um metabólito da vitamina A, o ácido retinoico *all-trans*, produzido pelas células epiteliais intestinais e DCs do GALT, embora os mecanismos pelos quais o ácido retinoico promove a produção de IgA sejam desconhecidos. O ácido retinoico também é importante para o *homing* das células B no intestino, como já discutido. O TGF-β e o ácido retinoico são abundantes no GALT e nos linfonodos mesentéricos, em comparação ao observado em tecidos

linfoides que não são de mucosa, como o baço e os linfonodos drenantes da pele, contribuindo amplamente para a propensão das células B no GALT de sofrerem troca para produção de IgA.

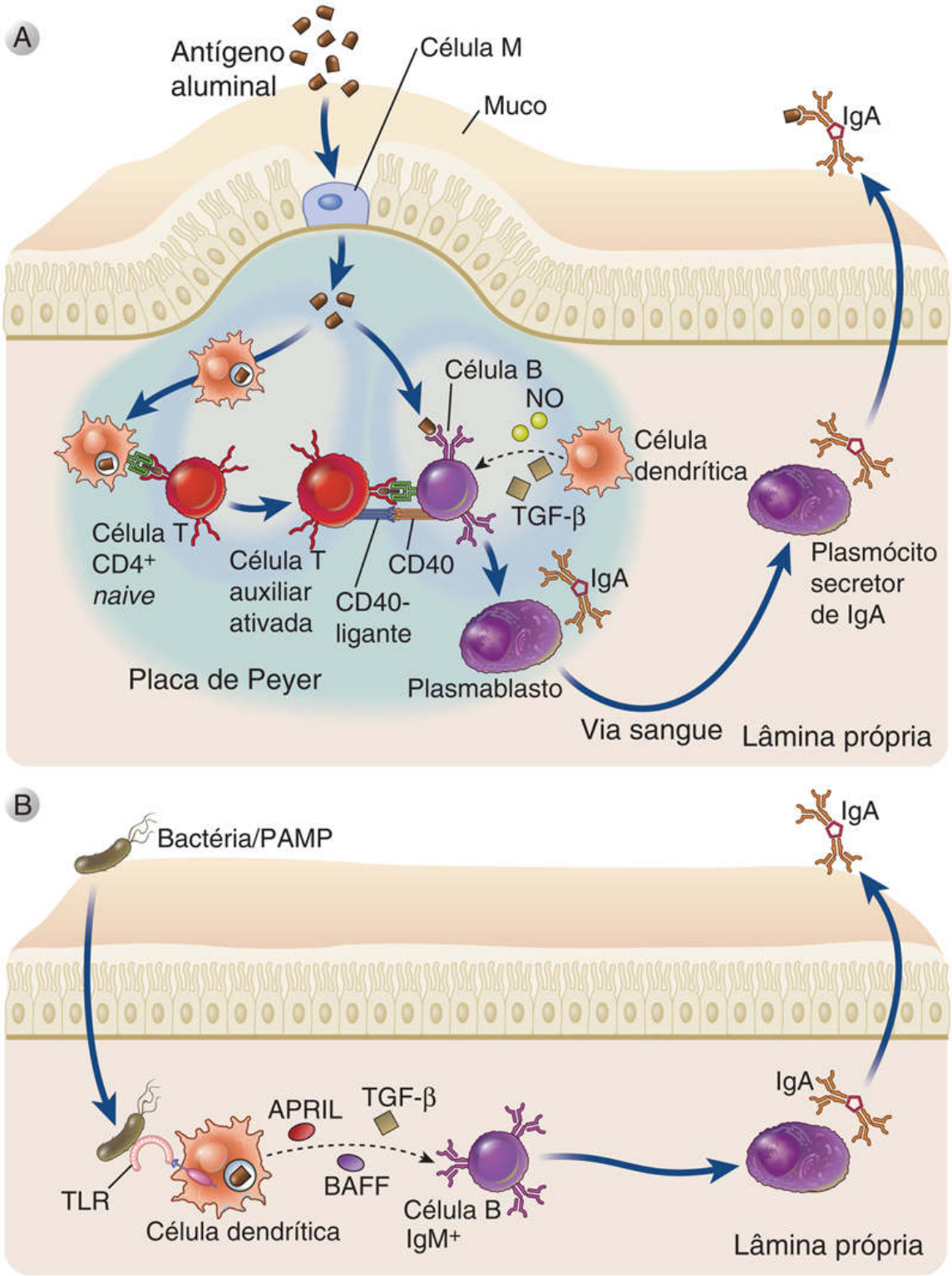


FIGURA 14.5 Troca de classe para IgA no intestino.
A troca de classe para IgA no intestino se dá por mecanismos T-dependentes e T-independentes. **A,** Na troca de classe para IgA T-dependente, as células dendríticas na cúpula subepitelial das

placas de Peyer capturam antígenos bacterianos distribuídos pelas células M e migram para a zona interfolicular, onde apresentam antígeno para as células T $CD4^+$ *naive*. As células T ativadas se diferenciam em células T auxiliares com fenótipo de célula T auxiliar folicular e se engajam em interações cognatas com células B IgM^+ apresentadoras de antígeno, as quais também capturaram e processaram o antígeno bacteriano. A troca de classe na célula B para IgA é estimulada por meio da ligação de CD40L na célula T ao CD40 na célula B, aliada à ação do TGF-β. Essa via dependente da célula T produz anticorpos IgA de alta afinidade. **B,** A troca de classe para IgA T-independente envolve a ativação pelas células dendríticas de células B IgM^+, incluindo células B-1. As células dendríticas ativadas por TLR secretam citocinas que induzem troca de classe para IgA, incluindo BAFF, APRIL e TGF-β. Essa via independente da célula T produz anticorpos IgA de afinidade relativamente baixa pelas bactérias intestinais. Esses mecanismos moleculares de troca de classe são descritos no Capítulo 12.

A produção de IgA no trato gastrintestinal é intensificada ainda mais pelas propriedades seletivas de* homing *intestinal das células produtoras de IgA que surgem no GALT e nos linfonodos mesentéricos (Fig. 14.3). Uma parte da IgA transportada ao longo do epitélio intestinal pode ser produzida por plasmócitos que se diferenciaram e permaneceram junto aos folículos do GALT subjacentes. No entanto, os plasmócitos secretores de IgA estão amplamente dispersos pela lâmina própria do trato gastrintestinal, não só nos folículos linfoides. Como já discutido, as células B ativadas que sofrem troca e se tornam células produtoras de IgA no GALT e linfonodos mesentéricos podem entrar na circulação sistêmica e então se alojarem de volta na lâmina própria intestinal, onde podem residir como plasmócitos.

A IgA secretada é transportada por meio das células epiteliais para dentro do lúmen intestinal via um receptor Fc chamado receptor de poli-Ig (Fig. 14.6). A IgA produzida pelos plasmócitos na lâmina própria está na forma de um dímero cujas unidades são unidas pela cadeia J, coordenadamente produzida, a qual é ligada de modo covalente por pontos dissulfeto às regiões Fc das cadeias pesadas α de duas moléculas de IgA. Os plasmócitos de mucosa produzem cadeia J em abundância, mais do que os plasmócitos em tecidos não mucosa, e a IgA sérica geralmente é um monômero sem cadeia J. A partir da lâmina própria, a IgA dimérica deve ser transportada ao longo do epitélio para dentro do lúmen. Essa função é mediada pelo receptor de poli-Ig, um glicoproteína integral de membrana com cinco domínios Ig extracelulares. A IgM

produzida pelos plasmócitos da lâmina própria também é um polímero (pentâmero) associado de modo covalente à cadeia J, e o receptor de poli-Ig também transporta a IgM para as secreções intestinais. É por isso que o receptor é chamado poli-Ig. Esse receptor é sintetizado pelas células epiteliais da mucosa e é expresso nas superfícies basal e lateral das células epiteliais. Sua produção pode ser aumentada por estímulos inflamatórios.

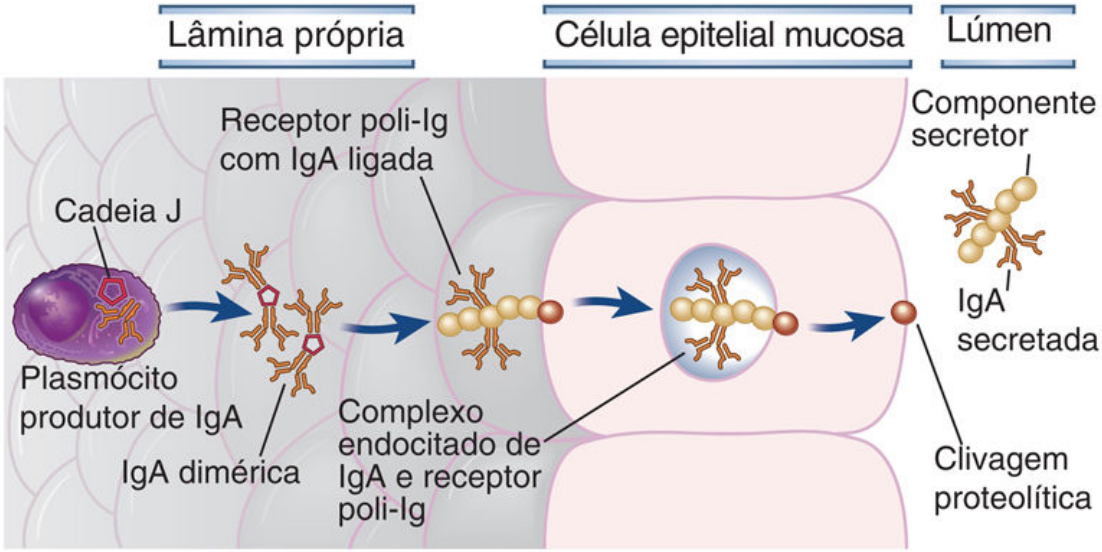


FIGURA 14.6 Transporte de IgA ao longo das células epiteliais.
A IgA é produzida por plasmócitos na lâmina própria do tecido de mucosa e se liga ao receptor poli-Ig na base de uma célula epitelial. O complexo é transportado ao longo da célula epitelial e a IgA ligada é liberada dentro do lúmen por clivagem proteolítica. O processo de transporte ao longo da célula, a partir da superfície basolateral para a superfície luminal, neste caso, é chamado transcitose.

A IgA dimérica (e a IgM pentamérica) secretada pelos plasmócitos na lâmina própria se liga ao receptor de poli-Ig nas células epiteliais da mucosa através de um domínio da cadeia J (Fig. 14.6). O complexo anticorpo-receptor é endocitado para dentro da célula epitelial e, diferente dos outros endossomos que tipicamente transitam para os lisossomos, as vesículas contendo receptor de poli-Ig são dirigidas e se fundem à membrana plasmática apical (luminal) da célula epitelial. Na superfície celular apical, o receptor de poli-Ig é proteoliticamente clivado, seus domínios transmembrana e citoplasmático são fixos à célula epitelial, e o domínio extracelular do receptor, que carrega a molécula de IgA, é

liberado no interior do lúmen intestinal. Esse processo de transporte de IgA ao longo do epitélio é chamado transcitose. A parte clivada do receptor de poli-Ig, chamada componente secretor, permanece associada à IgA dimérica no lúmen. Acredita-se que o componente secretor ligado protege a IgA (e a IgM) contra a proteólise por ação das proteases bacterianas presentes no lúmen intestinal, e esses anticorpos, assim, conseguem exercer sua função de neutralizar microrganismos e toxinas nesse sítio.

A IgG está presente nas secreções intestinais em níveis iguais aos da IgM, porém em níveis menores do que os de IgA. Em algumas secreções de mucosa (i. e., no reto, trato geniturinário e vias aéreas), os níveis de IgG são bastante elevados. O transporte de IgG para as secreções das mucosas pode ser mediado por transcitose via receptor Fc neonatal (FcRn), conforme discutido nos Capítulo 5 e 13.

A IgA produzida nos tecidos linfoides na glândula mamária é secretada no colostro e no leite maduro da mama por transcitose mediada por receptor de poli-Ig, e medeia a imunidade de mucosa passiva em crianças em fase de amamentação. A glândula mamária humana em fase de lactação contém um grande número de plasmócitos secretores de IgA, enquanto o epitélio glandular mamário é capaz de armazenar amplas quantidades de IgA secretória. Os plasmócitos na mama podem se originar em vários MALTs. Esses plasmócitos residem na mama porque a maioria dos plasmablastos de IgA expressam CCR10, independentemente dos tecidos linfoides onde são gerados, e os tecidos mamários expressam CCL28, a quimiocina que se liga ao CCR10. Durante a amamentação, uma criança ingere uma quantidade significativa de IgA materna que confere ampla proteção polimicrobiana no intestino do bebê. Quantidades moderadas de IgG e IgM também são secretadas no leite materno e contribuem para a imunidade passiva das crianças amamentadas. Numerosos estudos epidemiológicos demonstraram que a amamentação diminui significativamente o risco de doença diarreica e sepse, especialmente em países em desenvolvimento, e isso tem correlação com a presença no leite materno de IgA secretória específica para as espécies enterotóxicas de bactérias, incluindo *Escherichia coli* e *Campylobacter*.

Imunidade Mediada pela Célula T no Trato Gastrintestinal

As células T exercem papéis importantes na proteção contra patógenos microbianos junto ao sistema gastrintestinal e na regulação das respostas

aos antígenos comensais e alimentícios. Além disso, as células T contribuem para as doenças inflamatórias no trato gastrintestinal. Como em outras partes do corpo, a imunidade da célula T no intestino envolve diferentes subpopulações de células T e é influenciada de vários modos pelas DCs apresentadoras de antígeno, as quais também pertencem a diferentes subpopulações. Nesta seção, discutiremos aspectos importantes das funções da célula T e da DC nos intestinos.

As células T são encontradas junto à camada epitelial intestinal, dispersas ao longo da lâmina própria e submucosa, bem como ao redor e no interior dos folículos nas placas de Peyer e outras estruturas do GALT. Em seres humanos, a maioria das células T intraepiteliais são células $CD8^+$. Em camundongos, cerca de 50% dos linfócitos intraepiteliais expressam a forma γδ do TCR, de modo similar aos linfócitos intraepidérmicos na pele. Em humanos, apenas cerca de 10% dos linfócitos intraepiteliais são células γδ, porém essa proporção ainda é maior do que os percentuais de células γδ entre as células T em outros tecidos. Ambos os linfócitos intraepiteliais, que expressam TCR αβ e γδ, exibem diversidade limitada de receptores antigênicos e, portanto, uma gama restrita de especificidades, em comparação com a maioria das células T. Esse repertório restrito pode ter evoluído para reconhecer microrganismos comumente encontrados na superfície epitelial. As células T da lâmina própria são principalmente $CD4^+$, sendo que a maioria tem fenótipo de células T efetoras ativadas ou células T de memória, com estas últimas exibindo fenótipo de células de memória efetoras (Capítulo 9). Muitas células T de memória são células residentes teciduais não circulantes. Lembre que essas células T efetoras e de memória da lâmina própria são geradas a partir de precursores *naive* no GALT e nos linfonodos mesentéricos, entram na circulação e, preferencialmente, voltam a residir na lâmina própria (Fig. 14.3). As células T junto às placas de Peyer e outros folículos adjacentes ao epitélio intestinal são principalmente células T auxiliares $CD4^+$, incluindo as células T auxiliares foliculares e células T reguladoras.

DCs e macrófagos são abundantes no sistema imune gastrintestinal e podem participar na estimulação das respostas protetoras de célula T ou na indução de respostas da célula T reguladoras que suprimem a imunidade aos antígenos ingeridos e organismos comensais. Na lâmina própria, as DCs captam e processam antígenos proteicos oriundos de microrganismos que atravessam a barreira epitelial, e transportam os antígenos via linfáticos para os linfonodos mesentéricos (Fig. 14.7). No interior dos linfonodos mesentéricos, as DCs apresentam os antígenos proteicos processados para as células T *naive* e induzem a diferenciação

dessas células T em células efetoras Th1, Th2 ou Th17, ou ainda em células Treg FoxP3^{+}. Algumas DCs derivadas de macrófagos junto ao íleo terminal do intestino emitem projeções dendríticas por entre as células epiteliais, e coletam amostras dos conteúdos luminais (Fig. 14.7). Essas células amostradoras de antígeno especializadas, identificáveis pela expressão do receptor de quimiocina CX3CR, mantêm a integridade da barreira epitelial, ainda que projetem seus dendritos por entre as células epiteliais, por meio da produção das mesmas proteínas juncionais expressas pelas células epiteliais. Essas DCs promovem respostas imunes adaptativas protetoras contra patógenos no lúmen, passando os antígenos amostrados para as DCs mais móveis presentes na lâmina própria, as quais então migram para os linfonodos e ativam respostas de célula T efetora dirigidas a esses antígenos.

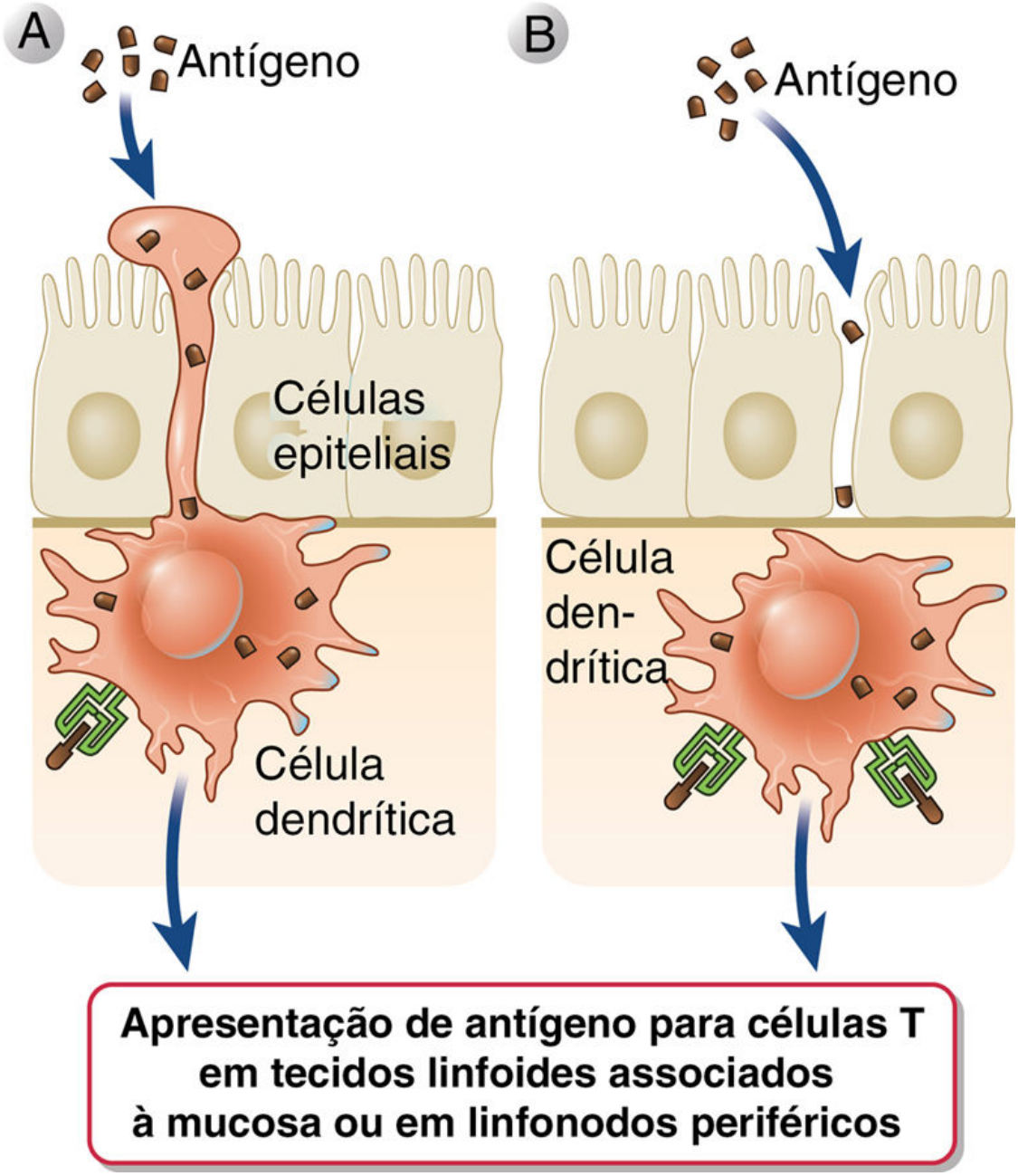


FIGURA 14.7 Amostragem de antígeno pelas células dendríticas intestinais.
As células dendríticas estão presentes na mucosa intestinal e amostram antígenos para a apresentação às células T no GALT e nos linfonodos mesentéricos. **A,** Algumas células dendríticas estendem processos dendríticos por entre as células epiteliais intestinais e para dentro do lúmen, para amostrar antígenos. Os macrófagos também podem amostrar antígenos luminais desta maneira. **B,** Outras células dendríticas presentes na lâmina própria

amostram antígenos derivados de conteúdos luminais e que atravessaram a barreira epitelial.

No trato gastrintestinal, diferentes subpopulações de células T CD4⁺ efetoras são induzidas por e contra diferentes espécies microbianas (Fig. 14.8). No Capítulo 10, introduzimos o conceito de que as subpopulações de células T auxiliares secretam diferentes citocinas e são especializadas para a proteção contra diferentes tipos de microrganismos. Esse conceito fundamental é altamente relevante para o sistema imune das mucosas. As células Th1, Th2 e Th17 são encontradas na lâmina própria do intestino e a microflora bacteriana comensal do lúmen intestinal exerce influências profundas sobre os fenótipos de célula T, até mesmo durante a homeostasia.

- ***Células Th17.*** Estudos conduzidos em camundongos demonstraram que certas classes de bactérias ou, em alguns casos, espécies bacterianas individuais, podem mudar o padrão dominante de produção de citocina da célula T. Exemplificando, a lâmina própria do intestino delgado em camundongos sadios é particularmente rica em células produtoras de IL-17, ao contrário do cólon. A presença de células Th17 depende da colonização do intestino por determinado filo de bactérias (bactérias filamentosas segmentadas) no período pós-natal, e muitas células Th17 são específicas para antígenos produzidos por essas bactérias. No estado estável, a presença de células Th17 é requerida para a proteção contra espécies patogênicas de bactérias (p. ex.: *Citrobacter rodentium*). As células Th17 parecem exercer papel especial na manutenção da função da barreira epitelial da mucosa, devido às duas citocinas assinatura que produzem, IL-17 e IL-22. Essas citocinas, conforme discutido anteriormente, também são produtos da subpopulação do grupo 3 de ILCs no intestino. Os receptores para essas duas citocinas são expressos nas células epiteliais intestinais, e ambos induzem a expressão de proteínas importantes para a função de barreira, como as mucinas e β-defensinas, que protegem as células epiteliais contra a lesão induzida por microrganismos. Os mecanismos subjacentes a essas alterações microrganismo-induzidas nas respostas de célula T não são bem conhecidas, mas é provável que envolvam sinais microrganismo-induzidos nas células epiteliais intestinais e DCs. Esses sinais modificam o fenótipo e o perfil de secreção de

citocinas das DCs e ILCs, e isso então influencia a diferenciação da subpopulação de célula T quando as DCs apresentam antígeno para células T *naive* antígeno-específicas. É igualmente possível que algumas bactérias induzam subpopulações de células Th17 deflagradoras de reações inflamatórias que servem para eliminar microrganismos mas também são capazes de causar doenças, enquanto outras espécies de bactérias são capazes de induzir respostas Th17, cuja principal função é manter a integridade da barreira. Os sinais que podem dirigir o desenvolvimento dessas populações distintas de células Th17 são indefinidos.

- ***Células Th2.*** As infecções intestinais por helmintos induzem fortes respostas Th2, as quais são efetivas na eliminação dos vermes porque as citocinas Th2 IL-4 e IL-13 cooperam na intensificação das secreções de fluidos e muco, bem como na indução da contração da musculatura lisa e motilidade intestinal.
- ***Células Th1.*** Essas células estão relativamente dispersas na lâmina própria sadia, em comparação às células Th17 ou Th2, mas aumentam numericamente no contexto da EI e podem contribuir para a patogênese desse distúrbio.

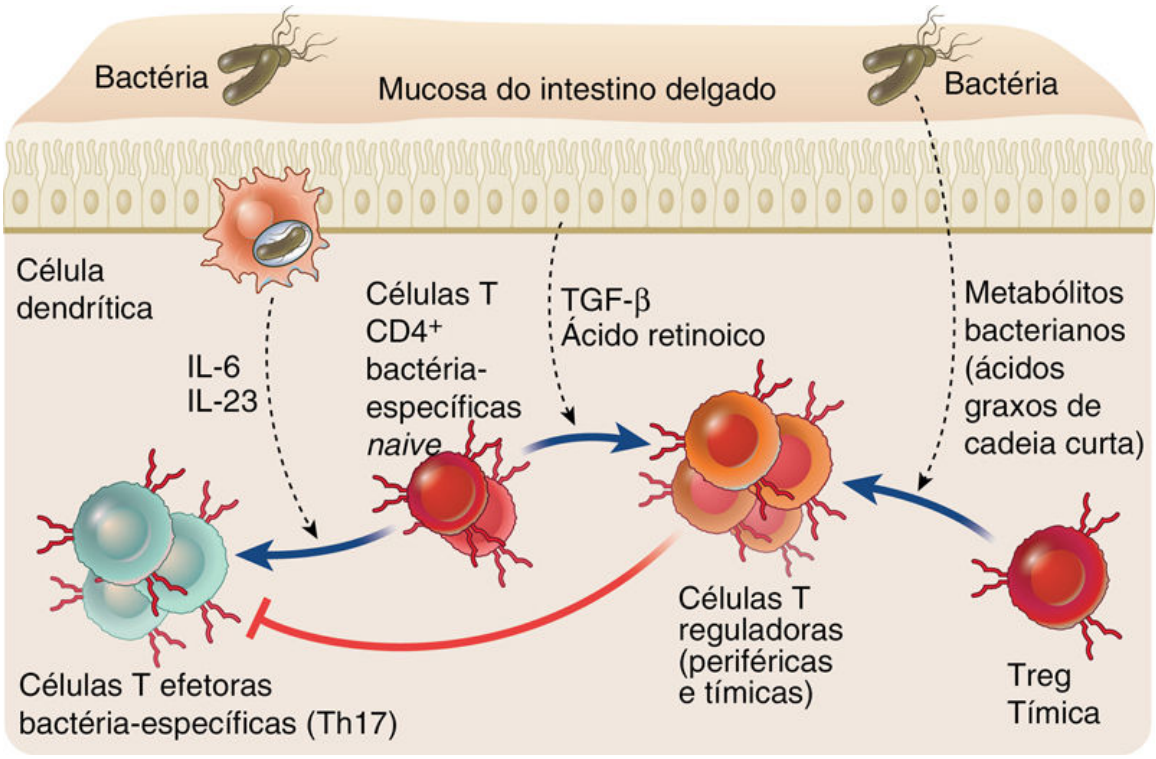


FIGURA 14.8 Células T efetoras e reguladoras na mucosa intestinal.
As células T efetoras Th17 e as células T reguladoras são abundantes na mucosa intestinal. As células Th17 específicas para os antígenos bacterianos se diferenciam a partir de células T $CD4^+$ *naive* em tecidos linfoides associados ao intestino (não mostrado) em resposta aos antígenos apresentados pelas células dendríticas e às citocinas por elas secretadas, incluindo IL-6 e IL-23. A diferenciação de células T reguladoras (Tregs) específicas para o antígeno bacteriano é promovida pelo TGF-β e ácido retinoico produzidos pelas células epiteliais intestinais. As Tregs tímicas que migram para o intestino se expandem numericamente sob influência de metabólitos bacterianos.

Regulação da Imunidade no Trato Gastrintestinal por Células T Reguladoras e Citocinas

As células T reguladoras são abundantes no GALT e previnem reações inflamatórias contra microrganismos comensais intestinais. Estima-se que a proporção de Tregs $FoxP3^+$ entre as células $CD4^+$ é aproximadamente 2 vezes maior no intestino do que em outros tecidos. Muitas células Tregs são induzidas no intestino em resposta aos antígenos encontrados localmente e, assim, pertencem à categoria de Tregs

periféricas (Capítulo 15) (Fig. 14.8). Os fatores que contribuem para a geração das Tregs periféricas incluem a produção local de ácido retinoico e TGF-β por DCs $CD103^+$ e macrófagos da lâmina própria. Ambos, ácido retinoico e TGF-β, promovem expressão de $FoxP3^+$ e inibem a geração de células Th1 e Th2. Além disso, os metabólitos de fermentação, como o ácido graxo de cadeia curta butirato, produzidos pelas bactérias comensais intestinais, especialmente espécies de *Clostridia*, estimulam a expansão periférica de Tregs tímicas. Como discutido no Capítulo 15, acredita-se que as Tregs suprimam as respostas imunes por meio de vários mecanismos. Dentre esses, o mecanismo dominante no intestino parece ser a produção da citocina imunossupressora IL-10.

Várias citocinas, incluindo TGF-β, IL-10 e IL-2, exercem papéis decisivos na manutenção da homeostase do sistema imune intestinal, e as deficiências dessas citocinas ou de seus receptores resultam em inflamação intestinal patológica. Grande parte do nosso conhecimento sobre a regulação mediada por citocinas no intestino advém de estudos realizados com camundongos nocauteados para genes de citocinas ou de receptores de citocinas. Uma das principais características do fenótipo de camundongos com deficiências induzidas de TGF-β, IL-10, receptor de IL-10, IL-2 e receptor de IL-2 é a inflamação descontrolada no intestino. Mutações no gene do receptor de IL-10 também causam um tipo raro de colite em bebês, confirmando a importância da IL-10 na prevenção da inflamação intestinal patológica em seres humanos. A inflamação descontrolada observada no intestino na ausência dessas citocinas ou de seus receptores é mais provavelmente causada pelas respostas imunes à flora intestinal comensal, uma vez que não ocorre inflamação em camundongos criados sob condições estéreis.

As fontes celulares de citocinas e as células-alvo relevantes que expressam receptores essenciais à prevenção da inflamação intestinal não estão completamente definidas. Modelos murinos em que citocinas, receptores de citocinas e sinalização de receptor de citocina são geneticamente anulados somente em tipos celulares específicos têm sido usados para responder a questão sobre os tipos celulares importantes. No caso da regulação da inflamação intestinal dependente de TGF-β e de IL-10, evidências indicam que as Tregs são uma fonte importante de citocinas. Por exemplo, a deleção seletiva do gene *Il10* em células $FoxP3^+$ leva ao desenvolvimento de colite grave, consistente com o papel decisivo da IL-10 produzida por Tregs na manutenção da homeostasia no trato gastrintestinal. É possível que os macrófagos sejam outra fonte importante de IL-10 no intestino. As células-alvo que expressam receptores para e são

reguladas por TGF-β e IL-10 provavelmente incluem DCs, células T efetoras, células efetoras inatas (p. ex.: macrófagos) e células epiteliais. Em camundongos com ausência da IL-2 ou do seu receptor, a EI é consequência de defeitos no desenvolvimento e função de Tregs, as quais requerem IL-2 para sua manutenção (Capítulo 15).

Tolerância Oral e Vacinas Orais

A tolerância oral é a não responsividade sistêmica a antígenos ingeridos ou administrados por via oral. A tolerância oral foi mais claramente demonstrada em modelos experimentais com roedores. Camundongos alimentados com altas doses de um antígeno proteico pode, subsequentemente, apresentar comprometimento das respostas humoral e mediada por célula T ao mesmo antígeno administrado por outras vias, como a via cutânea. Um fenômeno similar pode ser demonstrado quando antígenos são administrados pelas vias nasais na mucosa respiratória, sendo que o termo mais geral "tolerância de mucosa" é usado para descrever a tolerância induzida pela administração oral ou nasal do antígeno. Especula-se que o papel fisiológico da tolerância oral seja a prevenção de respostas imunes potencialmente prejudiciais a proteínas alimentares e bactérias comensais. Os mecanismos subjacentes de tolerância oral não são bem conhecidos, mas provavelmente incluem os mecanismos de tolerância periférica discutidos no Capítulo 15, como anergia, deleção e supressão mediada por Tregs. As Tregs induzidas na mucosa podem circular para outros tecidos, ou células T efetoras podem ser mortas ou tornadas não responsivas no intestino, e então deixam de estar disponíveis para responder a antígenos em outros sítios. Até o presente, as tentativas de tratar doença autoimune por meio da administração oral ou nasal de autoantígenos relevantes têm fracassado, porém houve êxito na minimização do desenvolvimento de alergia ao amendoim por meio da administração oral de extrato de amendoim no início da infância (Capítulo 20).

***A administração oral de antígeno no contexto de estimulação concomitante da imunidade inata pode levar a respostas imunes adaptativas produtivas, como ocorre no uso de vacinas orais para indução de respostas de anticorpo protetoras contra poliovírus ou contra a bactéria* S. typhi.** Essas vacinas consistem em microrganismos vivos atenuados capazes de infectar células no intestino e de estimular respostas inatas fortes que, então, promovem ativação de células T e B.

O Papel do Microbioma Comensal na Imunorregulação

O microbioma intestinal humano inclui todas bactérias comensais que normalmente residem nos intestinos, discutidas anteriormente, bem como as milhares de espécies de vírus, fungos e protozoários. Os seres humanos e seus microbiomas intestinais coevoluíram mecanismos para o benefício mútuo, incluindo mecanismos para defesa contra a invasão por esses organismos aliados a mecanismos para manutenção do equilíbrio por meio da minimização de respostas imunes pró- -inflamatórias desnecessárias a organismos comensais. Uma consequência dessa coevolução é uma profunda influência no microbioma sobre o sistema imune. O microbioma muda com a idade, dieta e doença, sendo que estudos experimentais indicam que essas alterações exercem impacto sobre a função imune localmente no intestino, e também sistemicamente.

Os organismos comensais nos intestinos são requeridos e regulam as respostas imunes inatas no intestino e também influenciam a imunidade inata. Estudos realizados com camundongos demonstraram que as bactérias comensais são necessárias para a proliferação e o reparo da barreira epitelial intestinal após a lesão — um efeito mediado pelos PAMPs da parede celular bacteriana e pelos TLRs aos quais se ligam nas células epiteliais. Conforme já mencionado, a microflora intestinal estimula a expressão de mucinas e moléculas antimicrobianas (incluindo defensinas e a lectina tipo C REGIIIγ) que previne a colonização bacteriana. Em adição, vários estudos realizados em camundongos demonstraram que produtos de bactérias comensais presentes no intestino influenciam o modo como neutrófilos circulantes e macrófagos atuam sistemicamente. Por exemplo, ácidos graxos de cadeia curta oriundos de bactérias intestinais diminuem as respostas inflamatórias dos neutrófilos, enquanto os fragmentos de peptidoglicano de bactérias intestinais intensificam a capacidade dos neutrófilos circulantes de matar bactérias Gram-positivas. Do mesmo modo, as bactérias intestinais parecem ser requeridas para as funções antivirais sistêmicas de macrófagos, DCs e células *natural killer* (NK).

Os organismos comensais intestinais influenciam as respostas imunes adaptativas local e sistêmica. Em camundongos, a produção de IgA na mucosa intestinal, que é um dos principais mecanismos imunes adaptativos para proteção contra a invasão microbiana através da barreira epitelial intestinal, depende da presença de uma subpopulação da flora bacteriana luminal do intestino delgado. Os antígenos bacterianos

comensais ativam respostas de IgA específica ao induzirem a expressão do fator ativador de célula B (BAFF, do inglês, *B cell activating factor*), APRIL e ácido retinoico, que são fatores de troca de IgA requeridos para a troca de classe T-dependente e T-independente de IgA na célula B (discutido anteriormente). Ao impedir os comensais de alcançarem o epitélio da barreira, a IgA no intestino diminui as respostas inatas contra esses organismos e limita tanto a ativação da célula B como as respostas de anticorpo, local e sistemicamente. Certas espécies de organismos comensais presentes no intestino também são requeridas para o acúmulo de células Th17 nesse local, como já discutido, e a presença dessas espécies diminui a resistência a alguns patógenos intestinais, mas pode aumentar a suscetibilidade à doença autoimune fora do intestino. Outras espécies comensais contribuem para o desenvolvimento das Tregs.

Em seres humanos, o impacto da microflora intestinal sobre as respostas imunes locais e sistêmicas é inferido a partir de numerosas observações clínicas e terapias experimentais. A flora normal parece ser requerida para prevenir respostas inatas intestinais prejudiciais e a inflamação induzida por bactérias patogênicas. Exemplificando, o tratamento antibiótico para infecções fora do intestino invariavelmente alterará a constituição da microflora intestinal, e isso está associado ao risco aumentado de infecções bacterianas patológicas no cólon, em especial por *Clostridium difficile*. Pacientes com infecção crônica por *C. difficile* são beneficiados pela administração oral de transplantes fecais, que repovoam o intestino com flora oriunda de indivíduos sadios.

O modo como a flora intestinal comensal humana influencia a saúde imunológica sistêmica é amplamente desconhecido. O risco de desenvolvimento de doença alérgica, incluindo a asma, foi associado a variações na microflora adquiridas durante a fase inicial da infância, como consequência do modo de nascimento (parto vaginal *vs.* parto por cesariana), amamentação e uso de antibiótico. Atualmente, os microbiomas de várias populações de indivíduos normais e de pacientes estão sendo caracterizados por abordagens genéticas. Embora este trabalho possa levar a uma melhor compreensão acerca do modo como o sistema imune humano é regulado pelas bactérias intestinais, um dos principais desafios na interpretação dos dados é a significativa variação que ocorre ao longo do tempo no microbioma humano, até mesmo em um único indivíduo.

Doenças Relacionadas com Respostas Imunes no Intestino

Dada a abundância de células imunes e sua atividade constante na mucosa intestinal, não surpreende que existam numerosas doenças intestinais relacionadas a respostas imunes anormais. Essas doenças geralmente são causadas por respostas desreguladas a organismos comensais ou antígenos presentes nos alimentos. A seguir, discutiremos exemplos seletos dessas doenças.

Enteropatia Inflamatória

A EI consiste em um grupo heterogêneo de distúrbios caracterizados por inflamação remitente crônica no intestino delgado ou grosso, a qual é provavelmente resultado de respostas inadequadamente reguladas a bactérias comensais. Os dois tipos principais de EI são a **doença de Crohn**, que pode afetar toda a espessura da parede em qualquer parte do trato gastrintestinal, contudo mais frequentemente envolve o íleo terminal; e a **colite ulcerativa,** que é restrita à mucosa colônica. Os sintomas incluem dor abdominal, vômito, diarreia e perda de peso. Os tratamentos incluem vários fármacos anti-inflamatórios, como sulfassalazina, corticosteroides, antagonistas de TNF e antimetabólitos. Embora as causas da doença de Crohn e da colite ulcerativa sejam pouco conhecidas, vários tipos de evidências sugerem que esses distúrbios resultam de defeitos na regulação das respostas imunes a organismos comensais no intestino em indivíduos geneticamente suscetíveis. Algumas anormalidades imunológicas podem contribuir para o desenvolvimento de EI.

- ***Defeitos na imunidade inata aos comensais intestinais.*** Anteriormente, discutimos a possibilidade de a EI resultar de um ou dos dois tipos de defeitos imunes inatos. Primeiro, pode haver expressão defeituosa de moléculas como as defensinas, levando a uma aumentada invasão bacteriana comensal através do epitélio intestinal. Em segundo lugar, pode haver regulação negativa inadequada das respostas imunes inatas a organismos comensais. Mutações com perda de função em genes codificadores do sensor imune inato citoplasmático NOD2 estão associadas a um subtipo de doença de Crohn e podem acarretar diminuição das defesas inatas contra microrganismos intestinais.
- ***Respostas Th17 e Th1 anormais.*** A análise de respostas de célula T em modelos experimentais animais e em pacientes com EI indica a existência de uma resposta ativa de Th17 nas partes afetadas do intestino. Estudos genéticos demonstraram que polimorfismos em

genes codificadores do receptor de IL-23 implicam em risco aumentado de EI, embora o efeito dos polimorfismos sobre a expressão ou função do receptor seja indeterminado. A doença de Crohn também é caracterizada por inflamação granulomatosa dirigida por células Th1 produtoras de interferon (IFN)-γ (Capítulo 19). Esses achados são a base do tratamento de pacientes com EI usando anticorpo monoclonal que se liga a um polipeptídeo (p40) compartilhado pela IL-23 e IL-12. A IL-23 é requerida para as respostas imunes mediadas por Th17, enquanto a IL-12 é requerida para respostas Th1 (Capítulo 10). Os estudos clínicos sobre o tratamento de EI com antagonista de IL-17 não demonstraram eficácia, sugerindo que a produção excessiva de IL-17, por si só, pode não ser responsável por estes distúrbios.

- ***Função defeituosa de células T reguladoras.*** É possível que a EI seja causada pela supressão Treg-mediada inadequada das respostas imunes a organismos comensais. A evidência que sustenta essa hipótese advém de modelos experimentais murinos em que a ausência de Tregs leva à EI. De fato, um dos primeiros experimentos que demonstrou a existência das Tregs foi o desenvolvimento de inflamação gastrintestinal em camundongos imunodeficientes que receberam injeção de células T $CD4^+CD25^-$ *naive*, as quais sabidamente contêm precursores de células T efetoras, mas não têm Tregs $CD4^+CD25^+$. Camundongos deficientes em Tregs em consequência da deleção de genes codificadores das proteínas IL-2 ou receptor de IL-2, como já mencionado, ou ainda camundongos nocauteados para o gene *FOXP3*, também desenvolvem colite. Em seres humanos, mutações em *FOXP3* resultam na falha em desenvolver Tregs e causam a doença chamada síndrome IPEX (do inglês, *immune dysregulation, polyendocrinopathy, enteropathy, X-linked* [imunodesregulação, poliendocrinopatia, enteropatia, ligada ao X]), que inclui uma grave inflamação intestinal, além de autoimunidade em muitos outros tecidos. Embora todas essas observações sejam consistentes com uma necessidade das Tregs de manter a homeostasia intestinal, como discutido anteriormente, não é sabido se os defeitos nas Tregs são subjacentes a maioria dos casos de EI em seres humanos.
- ***Os polimorfismos de genes associados à macroautofagia e à resposta de proteína não dobrada ao estresse do retículo endoplasmático constituem fatores de risco de enteropatia***

inflamatória. Evidência experimental sugere que a conexão entre EI e variantes na resposta de proteína não dobrada e genes de autofagia está relacionada a uma secreção diminuída de enzimas antimicrobianas e defensinas pela célula de Paneth. A macroautofagia é um processo em que as células sequestram organelas citoplasmáticas junto aos autofagossomos que, então, se fundem com lisossomos promovendo a destruição das organelas. As variantes dos genes de autofagia (incluindo *ATG16L1* e *IRGM*) associadas à doença de Crohn comprometem a autofagia nas células de Paneth e, por motivos desconhecidos, isso diminui a secreção de lisozima e defensinas dentro do lúmen intestinal. A autofagia também está ligada a outro processo, chamado resposta de proteína não dobrada, que ocorre quando proteínas dobradas de modo incorreto se acumulam no retículo endoplasmático. Isso leva à ativação de uma série de proteínas, incluindo o fator de transcrição XBP-1, que atuam juntas reduzindo a tradução proteica e aumentando a expressão de chaperonas promotoras do correto dobramento de proteínas. As células de Paneth, assim como outras células secretoras, dependem de uma resposta de proteína não dobrada para manter a homeostasia proteica, e os defeitos nessa resposta contribuem para a função anormal e sobrevivência das células de Paneth.

Doença Celíaca

A doença celíaca (enteropatia glúten-sensível ou espru não tropical) é uma doença inflamatória da mucosa do intestino delgado causada por respostas imunes dirigidas contra as proteínas do glúten ingeridas presentes no trigo e em outros grãos. A doença celíaca é caracterizada pela inflamação crônica na mucosa do intestino delgado, levando à atrofia dos vilos, má absorção e várias deficiências nutricionais que levam a manifestações extraintestinais. A doença é tratada com dietas restritas a alimentos isentos de glúten. Os pacientes produzem anticorpos IgA e IgG específicos para o glúten, bem como autoanticorpos específicos para transglutaminase 2A, uma enzima que modifica a gliadina, proteína do glúten. Acredita-se que esses autoanticorpos surjam quando células B específicas para transglutaminase endocitam a transglutaminase do hospedeiro covalentemente ligada à gliadina, e as células B apresentam peptídeos de gliadina para células T auxiliares, as quais então ajudam na resposta de anticorpos anti-transglutaminase. Não é sabido se esses

anticorpos contribuem para o desenvolvimento da doença, mas são um marcador diagnóstico para esta doença. Há forte evidência de que as respostas de células T $CD4^+$ à gliadina estão envolvidas na patogênese da doença. Células T específicas para os peptídeos da gliadina são encontradas em pacientes com doença celíaca, e o processo inflamatório no intestino inclui células T e citocinas de células T. Há um alto risco relativo de desenvolvimento de enteropatia por glúten entre pessoas portadoras dos dois alelos HLA de classe II, HLA-DQ2 e HLA-DQ8, e os peptídeos da gliadina se ligam fortemente às moléculas do complexo principal de histocompatibilidade (MHC, do inglês, *major histocompatibility complex*) codificadas por esses alelos. Além das respostas de células T $CD4^+$, o *killing* de células epiteliais intestinais por linfócitos T citotóxicos (CTL, do inglês, *cytotoxic T lymphocyte*) $CD8^+$ também pode contribuir para a doença celíaca, embora a fonte de peptídeos reconhecidos pelas CTLs não esteja esclarecida.

Outras Doenças

As alergias alimentares são causadas por respostas Th2 a numerosas proteínas alimentares e causam reações inflamatórias agudas localmente, no intestino, e também ao nível sistêmico, mediante ingesta dessas proteínas. As alergias resultam de respostas de IgE Th2-dependentes a antígenos ambientais (alérgenos), que são proteínas ou substâncias químicas que modificam proteínas próprias. No caso das alergias alimentares, os antígenos ambientais são ingeridos e há uma falha da imunotolerância adaptativa a esses antígenos. Os anticorpos antialérgeno se ligam aos receptores Fc presentes em mastócitos e a exposição subsequente ao alérgeno irá causar a ligação cruzada de receptores Fc, ativação de mastócitos e liberação de potentes aminas pró-inflamatórias e mediadores lipídicos, bem como de citocinas. Existem mastócitos em abundância na lâmina própria intestinal. Portanto, a ingesta de um alérgeno alimentar por um indivíduo que tenha montado previamente uma resposta Th2 e de IgE contra esse alérgeno irá deflagrar a ativação dos mastócitos com suas consequências patológicas. As citocinas produzidas pelas células Th2 também estimulam diretamente o peristaltismo e podem desencadear sintomas de alergias alimentares até mesmo sem participação de IgE. Essas reações podem causar sintomas gastrintestinais, como náusea, vômitos, diarreia e dor abdominal, porém o alérgeno pode ser absorvido no sangue e acabar ativando mastócitos em muitos tecidos

diferentes, produzindo manifestações sistêmicas. Discutiremos as reações alérgicas em maiores detalhes no Capítulo 20.

Respostas imunes prolongadas a microrganismos gastrintestinais podem levar ao surgimento de tumores no trato gastrintestinal. O exemplo mais bem comprovado são os chamados linfomas MALT, encontrados no estômago de pessoas com infecção por *Helicobacter pylori*. Esses linfomas são tumores que surgem a partir de células B foliculares malignamente transformadas nos folículos linfoides da lâmina própria gástrica. Acredita-se que *H. pylori* induza uma reação inflamatória, e a associada ativação da célula B estabelece o cenário para a ocorrência das mutações oncogênicas que transformam as células. Notavelmente, se os linfomas MALT gástricos forem diagnosticados antes de se dispersarem além da parede estomacal, os pacientes podem ser curados com o tratamento antibiótico da infecção causada por *H. pylori*.

Imunidade em Outros Tecidos de Mucosa

Assim como a mucosa gastrintestinal, as mucosas do sistema respiratório, do sistema geniturinário e da conjuntiva devem manter uma barreira contra a invasão de diversos microrganismos presentes no ambiente, bem como equilibrar as respostas protetoras efetivas contra os microrganismos invasores com a supressão das respostas a organismos comensais. Muitos dos aspectos da imunidade gastrintestinal que descrevemos são compartilhados pela imunidade das mucosas nesses diferentes locais. Esses aspectos compartilhados incluem: as barreiras epiteliais secretoras de muco e defensina relativamente impermeáveis; acúmulos localizados de tecidos linfoides logo sob o epitélio; a amostragem constante de antígenos localizados fora das barreiras por células imunes junto a barreira; a integração de sinais pró-inflamatórios e reguladores gerados pela ligação de produtos microbianos a receptores de imunidade inata presentes em células epiteliais e dendríticas; a forte dependência da imunidade humoral mediada por IgA secretora para prevenção de invasão microbiana; e a presença de populações de células dendríticas que estimulam tipos particulares de respostas de células T efetoras e reguladoras. Em adição a esses aspectos compartilhados, cada tecido de mucosa distinto tem características exclusivas que refletem as diferentes funções e anatomia dos órgãos dos quais fazem parte, bem como a gama de antígenos ambientais e microrganismos presentes em cada local. A seguir, discutiremos algumas das principais características da imunidade de mucosas nos sistemas respiratório e geniturinário.

Imunidade no Sistema Respiratório

A mucosa do sistema respiratório reveste as vias nasais, nasofaringe, traqueia e árvore brônquica. Os alvéolos, que são os terminais em forma de saco revestidos de epitélio, também podem ser considerados parte da mucosa respiratória. A inalação do ar expõe a mucosa respiratória a uma ampla variedade de substâncias estranhas, incluindo organismos infecciosos transportados pelo ar, pólens de plantas, partículas de poeira e diversos outros antígenos ambientais. A flora microbiana das vias aéreas é bem menos densa e menos diversificada do que no intestino, enquanto as vias aéreas profundas e os alvéolos contêm menos organismos do que as vias aéreas superiores. Mesmo assim, mecanismos similares se desenvolveram junto ao sistema imune da mucosa respiratória para

alcançar um equilíbrio entre imunoativação para proteger contra patógenos e imunorregulação para evitar respostas desnecessárias ou excessivas que possam comprometer as funções fisiológicas. A falha do sistema imune em controlar as infecções broncopulmonares e as respostas imunes ou inflamatórias excessivas às infecções constituem as principais causas de morbidade e mortalidade no mundo inteiro.

Imunidade Inata no Sistema Respiratório

O epitélio colunar ciliado pseudoestratificado que reveste a maior parte da mucosa respiratória, incluindo as vias nasais, nasofaringe e árvore brônquica, exerce funções de barreira física e química similares as do epitélio intestinal, graças às *tight junctions* existentes entre as células e à secreção de muco, defensinas e catelicidinas. O muco nas vias aéreas captura substâncias estranhas, incluindo microrganismos, enquanto os cílios movem o muco e os microrganismos capturados para cima e para fora dos pulmões. A importância do muco e dos cílios na imunoproteção inata nos pulmões é ilustrada pela frequência significativamente aumentada de infecções broncopulmonares graves em pessoas com função ciliar diminuída, como indivíduos que fumam muitos cigarros, ou pela produção comprometida de muco, como em pacientes com fibrose cística.

As respostas inatas nos alvéolos exercem funções antimicrobianas, mas são rigorosamente controladas para prevenir a inflamação, a qual comprometeria as trocas gasosas. Os alvéolos são suscetíveis ao espalhamento da infecção por broncopneumonia, e as células do revestimento alveolar podem ser diretamente infectadas por vírus. As proteínas surfactantes A (SP-A) e D (SP-D), secretadas dentro dos espaços alveolares, são membros da família das colectinas (Capítulo 4) e se ligam a PAMPs carboidratos na superfície de muitos patógenos. Esses surfactantes estão envolvidos na neutralização viral e na remoção de microrganismos dos alvéolos, mas também suprimem respostas inflamatórias e alérgicas no pulmão. Por exemplo, a SP-A inibe a sinalização de TLR2 e TLR4, bem como a produção de citocinas inflamatórias em macrófagos alveolares, sendo que a SP-A também se liga ao TLR4 e inibe a ligação do LPS. A SP-A e a SP-D diminuem a atividade fagocítica dos macrófagos alveolares.

Os macrófagos alveolares representam a maioria das células livres junto aos espaços alveolares. Essas células são funcionalmente distintas dos macrófagos da maioria dos outros tecidos, no sentido de que mantêm um fenótipo anti-inflamatório. Expressam IL-10, óxido nítrico e TGF-β, além de serem fracamente fagocíticas em comparação aos macrófagos residentes

em outros tecidos, como baço e fígado. Os macrófagos alveolares inibem as respostas de célula T, bem como a função de apresentação de antígeno das DCs das vias aéreas — efeitos atribuídos à IL-10 e ao TGF-β que secretam.

Imunidade Adaptativa no Sistema Respiratório

A imunidade humoral protetora nas vias aéreas é dominada pela IgA secretória, assim como em outros tecidos de mucosa, embora a quantidade de IgA secretada seja menor do que no trato gastrintestinal. A IgA secretória exerce papel importante nas vias aéreas superiores. Os sítios anatômicos de ativação, diferenciação e troca de classe de IgA da célula B *naive* podem variar, mas incluem tonsilas e adenoides na nasofaringe e nos linfonodos no mediastino e adjacente aos brônquios, nos pulmões. Há relativamente poucos folículos linfoides agregados ou isolados na lâmina própria, em comparação ao observado no intestino, e provavelmente menos iniciação de respostas imunes humorais nesses locais. O *homing* de plasmablastos secretores de IgA de volta para o interior do tecido das vias respiratórias nas proximidades do epitélio da mucosa respiratória depende da quimiocina CCL28 secretada pelo epitélio respiratório e seu receptor CCR10 nos plasmócitos. A IgA é transportada para dentro do lúmen das vias aéreas pelo mesmo mecanismo de receptor de poli-Ig de transporte transcelular do intestino. As respostas de IgE aos antígenos nas vias aéreas são frequentes e estão envolvidas nas doenças alérgicas do sistema respiratório, incluindo a febre do feno e a asma. A IgE desempenha suas funções efetoras inflamatórias quando ligada aos mastócitos, abundantes nas vias aéreas.

As respostas de célula T no pulmão são iniciadas pela amostragem de antígenos de vias aéreas pelas DCs, e apresentação desses antígenos a células T *naive* nos linfonodos peribrônquicos e mediastínicos. Uma rede de DCs está presente na mucosa das vias aéreas e uma subpopulação dessas DCs brônquicas estende os dendritos por entre as células epiteliais bronquiais e para dentro do lúmen das vias respiratórias. Essas DCs mostram antígenos das vias aéreas, migram para os linfonodos drenantes, apresentam os antígenos processados para células T *naive* e têm propensão a dirigir a diferenciação dessas células T para a subpopulação Th2. As células Th2 se alojam de volta dentro da mucosa bronquial, onde podem ser reativadas por alérgenos apresentados pelas DCs na lâmina própria. Essa via é considerada central ao desenvolvimento de asma alérgica (Capítulo 20). Outras DCs são encontradas na lâmina própria, sob as células epiteliais.

Imunidade no Sistema Geniturinário

A defesa imune inata contra a invasão e infecção microbiana na mucosa geniturinária depende principalmente do revestimento epitelial, como em outras barreiras de mucosa. O epitélio escamoso estratificado reveste a mucosa vaginal e a uretra terminal masculina, sendo que uma camada única de epitélio colunar secretor de muco reveste o trato genital superior feminino. O epitélio vaginal contém células de Langerhans, e uma variedade de DCs e macrófagos foram descritos abaixo do epitélio na vagina, endocérvice e uretra. Também há células B e T residentes na mucosa genital. As diferenças no fenótipo das DCs e macrófagos na mucosa genital feminina em relação ao daqueles encontrados no trato gastrintestinal podem estar por trás da maior suscetibilidade dos primeiros à infecção pelo HIV. Há pouca especialização regional do sistema imune adaptativo na mucosa geniturinária, na qual não há MALTs proeminentes. Diferente de outras mucosas, nas quais a IgA é o isotipo de anticorpo dominante, a maioria dos anticorpos presentes nas secreções genitais é IgG e metade desses anticorpos são produzidos por plasmócitos na mucosa do trato genital, enquanto o restante é oriundo da circulação.

Sistema Imune Cutâneo

A pele inclui duas camadas principais, a epiderme externa composta majoritariamente de células epiteliais e, separada por uma fina membrana basal, a derme subjacente composta por tecido conectivo e estruturas acessórias especializadas, como folículos pilosos e glândulas sudoríparas. Junto a essas duas camadas, uma variedade de tipos celulares distintos e seus produtos, abrangendo o sistema imune cutâneo (Fig. 14.9), fornecem as funções de barreira física e defesa imune ativa contra microrganismos. A pele de um adulto tem uma área aproximada de 2 m^2 e é a segunda maior barreira do corpo contra microrganismos ambientais e outros materiais estranhos. Mesmo assim, dada a sua localização mais externa, a pele normalmente é colonizada por muitos microrganismos e frequentemente é rompida por traumatismos e queimaduras. Dessa forma, a pele é uma porta de entrada comum para uma ampla variedade de microrganismos e outras substâncias estranhas, além de ser o sítio de muitas respostas imunes.

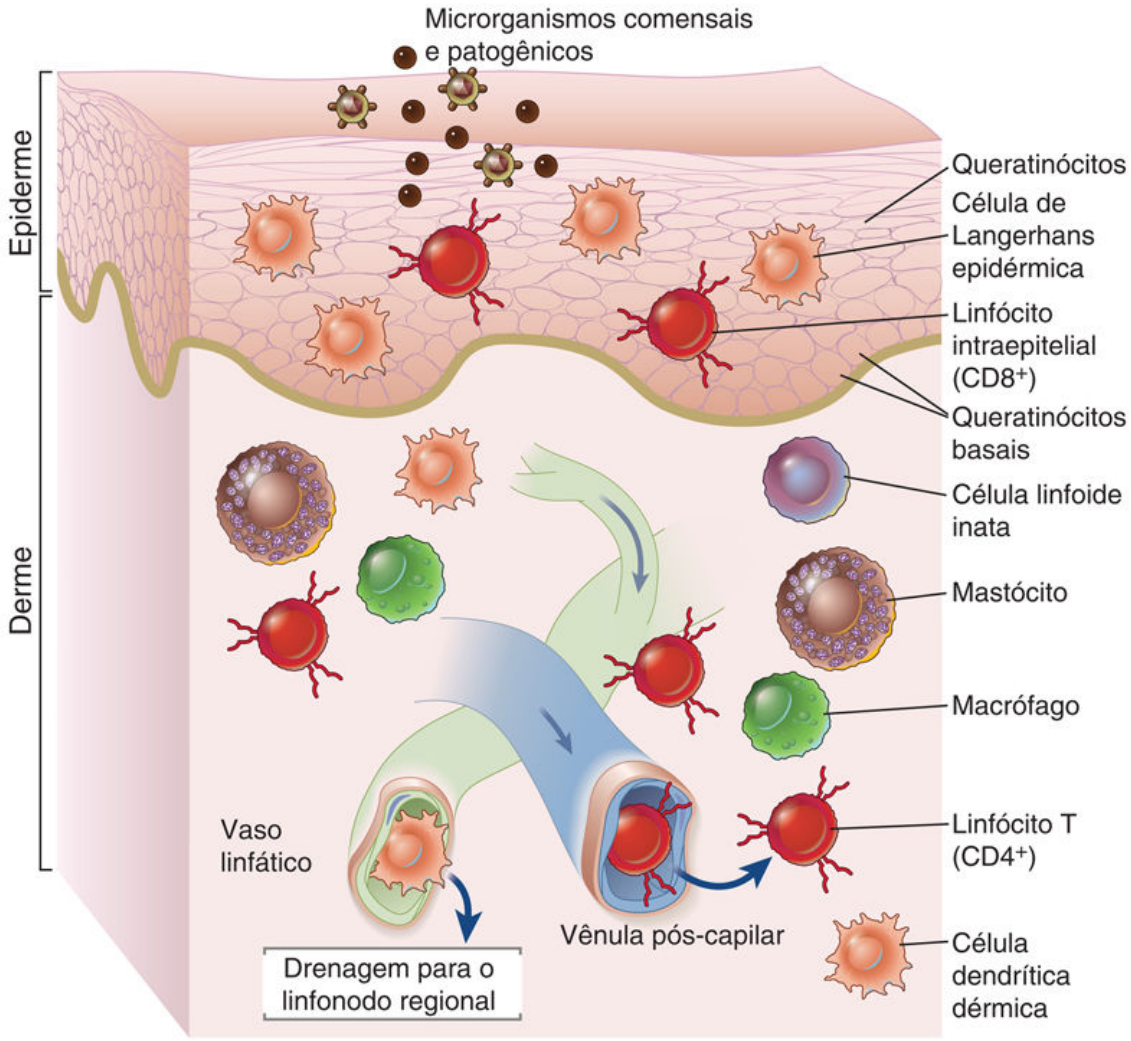


FIGURA 14.9 Componentes celulares do sistema imune cutâneo.
Os principais componentes do sistema imune cutâneo mostrados neste diagrama esquemático incluem os queratinócitos, células de Langerhans e linfócitos intraepiteliais, todos localizados na epiderme, além de linfócitos T, células dendríticas e macrófagos localizados na derme.

Respostas Imunes Inata e Adaptativa na Pele

A epiderme fornece uma barreira física à invasão microbiana. A epiderme consiste em múltiplas camadas de epitélio escamoso estratificado, constituídas quase totalmente por células epiteliais especializadas chamadas queratinócitos. A camada basal de queratinócitos, ancorados na membrana basal, está em contínua proliferação e suas células progenitoras

em maturação são deslocadas para cima e se diferenciam para formar várias camadas distintas. Na camada do topo, chamada estrato córneo, as células sofrem morte celular programada e assim formam uma barreira de permeabilidade rica em queratina e lipídeos, importante para a proteção contra microrganismos e também agentes físicos e químicos prejudiciais.

Além de formar uma barreira física, os queratinócitos respondem ativamente aos patógenos e à lesão produzindo peptídeos antimicrobianos que matam os microrganismos, bem como várias citocinas que promovem e regulam as respostas imunes. Os peptídeos antimicrobianos produzidos pelos queratinócitos incluem defensinas, S100 e catelicidinas (Capítulo 4). As citocinas produzidas pelos queratinócitos incluem TNF, TSLP, IL-1, IL-6, IL-18, IL-25 e IL-33, que promovem inflamação; fator estimulador de colônias de granulócitos-macrófagos (GM-CSF, do inglês, *granulocyte-macrophage colony-stimulating factor*), indutor de diferenciação e ativação de DCs na epiderme (discutido adiante); e IL-10, que controla as respostas imunes. Os queratinócitos produzem a quimiocina CCL27, que participa no recrutamento de linfócitos que expressam CCR10. A expressão induzida de defensinas, citocinas e quimiocinas pelos queratinócitos depende de receptores imunes inatos, entre os quais TLRs e NLRs. Os queratinócitos expressam a maioria dos TLRs e inflamassomos NLRP3 geradores de IL-1 e IL-18 ativas (Capítulo 4). Na pele normal, os queratinócitos sintetizam constitutivamente pró-IL-1β e pró-IL-18. Estímulos como a radiação UV ativam o inflamassomo a processar estas pró-citocinas nas formas ativas, explicando assim a resposta inflamatória à queimadura solar. Quando as vias transdutoras de sinal ligadas às respostas inflamatórias, como as vias do NF-κB e do STAT3, são geneticamente ativadas apenas em queratinócitos, os camundongos desenvolvem doenças cutâneas inflamatórias. Isso demonstra o potencial dos queratinócitos de atuarem como agentes centrais nas respostas imunes cutâneas.

As respostas imunes inatas aos patógenos que rompem a barreira epidérmica são iniciadas por macrófagos, mastócitos e ILCs na derme. Conforme descrevemos para outros tecidos, os mastócitos e macrófagos residentes expressam TLRs e outros receptores inatos de reconhecimento de padrão, e respondem aos padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs, do inglês, *pathogen-associated molecular patterns*) e aos padrões moleculares associados ao dano (DAMPs, do inglês, *damage-associated molecular patterns*) secretando citocinas inflamatórias e mediadores lipídicos. As ILCs são ativadas por citocinas secretadas pelos queratinócitos e células sentinela, secretando, por sua vez, outras citocinas

inflamatórias que influenciam o tipo de respostas inflamatórias subsequentes. Exemplificando, as ILC2s são ativadas por TSLP, IL-25 e IL-33 derivados de queratinócitos, e então secretam IL-5 que promove inflamação eosinofílica. A produção de IL-18 por queratinócitos e células sentinela ativa ILC1s a secretarem IFN-γ, que promove a defesa mediada por macrófagos. As DCs também exercem um importante papel de sentinela na pele, como discutido em maiores detalhes a seguir.

Várias populações de DCs normalmente estão presentes na pele e contribuem para as respostas imunes inatas e para a iniciação das respostas de célula T aos antígenos microbianos e ambientais que entram no corpo através da pele. Na epiderme, as DCs mais abundantes são as células de Langerhans (Fig. 2.4), que expressam um receptor de lectina tipo C chamado langerina (CD207) e contêm numerosos grânulos de Birbeck no citoplasma. As células de Langerhans povoam a pele durante o desenvolvimento embrionário e estudos sobre linhagens indicam que, do ponto de vista do desenvolvimento, estão relacionadas a outros macrófagos residentes teciduais e não às DCs convencionais. Os dendritos das células de Langerhans formam uma malha densa entre os queratinócitos da epiderme. Na derme, DCs relativamente escassas expressam langerina, bem como CD103 em camundongos e CD141 em seres humanos, representando uma linhagem que se distingue das células de Langerhans. Cada uma dessas populações de DCs expressa receptores de reconhecimento de padrão inatos para PAMPs, bem como para DAMPs derivados de células lesadas. As DCs respondem a esses ligantes secretando citocinas inflamatórias.

Ambas, células de Langerhans epidérmicas e DCs dérmicas, captam antígenos proteicos, processam os antígenos em peptídeos e migram para os linfonodos drenantes onde apresentam complexos peptídeo-MHC a células T *naive* (Capítulo 6). As contribuições das diferentes subpopulações de DCs cutâneas para a iniciação de diferentes tipos de respostas de célula T não são totalmente conhecidas. Foram desenvolvidos modelos murinos em que subpopulações particulares de DCs foram eliminadas, e esses modelos mostram que as células de Langerhans murinas são dispensáveis para a ativação de respostas de células T $CD4^+$ e $CD8^+$ contra muitos tipos de antígenos na pele, mas aparentemente atuam nas respostas Th17 a patógenos extracelulares, bem como na tolerância a alguns antígenos cutâneos. Em camundongos e seres humanos, as DCs que expressam langerina são requeridas para o *cross-priming* de células T $CD8^+$ *naive*.

A pele humana normal contém muitas células T, e 95% dessas células exibem fenótipo de memória. Existem cerca de 1 milhão de células T/cm^2

ou aproximadamente 2×10^{10} células T na pele. Cerca de 98% dessas células T estão presentes na derme e 2% são linfócitos intraepidérmicos. Os linfócitos T dérmicos (ambos, células $CD4^+$ e $CD8^+$) estão predominantemente em localizações perivasculares e perifoliculares. A maioria dessas células T dérmicas são células de memória geradas nos linfonodos em infecções cutâneas prévias, as quais então se alojam e permanecem na pele por longos períodos de tempo sem recircular; são chamadas células T de memória residentes. Pequenos números de células T de memória residentes, tanto $CD4^+$ como $CD8^+$, são encontradas na epiderme e expressam a integrina CD103 que se liga a ligantes existentes nas células epiteliais e servem para reter as células T na pele. Todas essas células T de memória residentes exibem funções efetoras poderosas quando ativadas pelo antígeno, incluindo células $CD4^+$ de cada uma das principais subpopulações auxiliares, Th1, Th2, Th17 e Treg. As células Th1 e Th17 são importantes para a defesa microbiana contra microrganismos intra e extracelulares, respectivamente. As duas citocinas-assinatura de Th17, IL-17 e IL-22, comprovadamente induzem a expressão de defensinas e catelicidinas pelos queratinócitos, enquanto a IL-22 induz proliferação das células epidérmicas. Em contraste, as citocinas Th2 IL-4 e IL-13 suprimem a produção de defensinas e de catelicidina, podendo resultar em infecções nas doenças cutâneas dirigidas por Th-2. As células T $\gamma\delta$ dérmicas podem ser uma fonte de IL-17 em algumas doenças cutâneas inflamatórias crônicas.

As células T na pele expressam moléculas de* homing *que dirigem sua migração para fora dos microvasos dérmicos (Fig. 14.10). A migração de células T efetoras ou de memória para dentro da pele depende da expressão do antígeno linfocitário cutâneo (CLA, do inglês, *cutaneous lymphocyte antigen*) na célula T, o qual representa uma porção carboidrato ligante de E-selectina exibido em diversas glicoproteínas na membrana plasmática da célula endotelial. Além disso, a expressão na célula T de CCR4, CCR8 e CCR10, que se ligam às quimiocinas CCL17, CCL1 e CCL27, respectivamente, também é requerida para o trânsito da célula T até a pele. As propriedades de *homing* na pele das células T são impressas durante a ativação nos linfonodos drenantes da pele, por meio de um processo análogo ao *imprinting* das propriedades de *homing* no intestino das células T nos linfonodos mesentéricos, discutido anteriormente neste capítulo. Quando as células T *naive* reconhecem antígenos apresentados por DCs nos linfonodos drenantes da pele, as células T recebem sinais oriundos das DCs que não só induzem proliferação e diferenciação em células efetoras como também induzem expressão de moléculas de *homing*

para a pele, CLA, CCR4, CCR8 e CCR10. Curiosamente, a luz solar e a vitamina D parecem exercer papel importante na migração da célula T para a pele, de modo análogo ao papel da vitamina A e seu metabólito, o ácido retinoico, na migração de linfócitos para o intestino. Os raios UVB presentes na luz solar atuam no 7-desidrocolesterol produzido na camada basal da epiderme, convertendo-o em pré-vitamina D_3. As DCs dérmicas expressam vitamina D_3 hidrolases que convertem a pré-vitamina D_3 na forma ativa, a $1,25(OH)_2D_3$, que pode ser transportada na forma livre ou junto às DCs que migram para os linfonodos drenantes da pele. No linfonodo, a $1,25(OH)_2D_3$ entra nas células T que foram ativadas pelas DCs apresentadoras de antígeno, transloca-se para o núcleo e induz transcrição de CCR10. A IL-12 produzida pelas DCs participa na indução de CLA. CCR4 e CCR8 também são positivamente reguladas, enquanto a integrina $\alpha_4\beta_7$ de *homing* no intestino é regulada negativamente, por sinais desconhecidos, durante a ativação da célula T nos linfonodos drenantes da pele. Assim, as células T *naive* ativadas nos linfonodos drenantes da pele irão se diferenciar em células T efetoras que preferencialmente se alojam de volta na pele. A $1,25(OH)_2D_3$ também pode agir localmente, junto à derme, sobre as células T efetoras e de memória, para regular positivamente CCR10 e promover migração das células T para dentro da epiderme em resposta ao ligante de CCR10, o CCL27, produzido pelos queratinócitos.

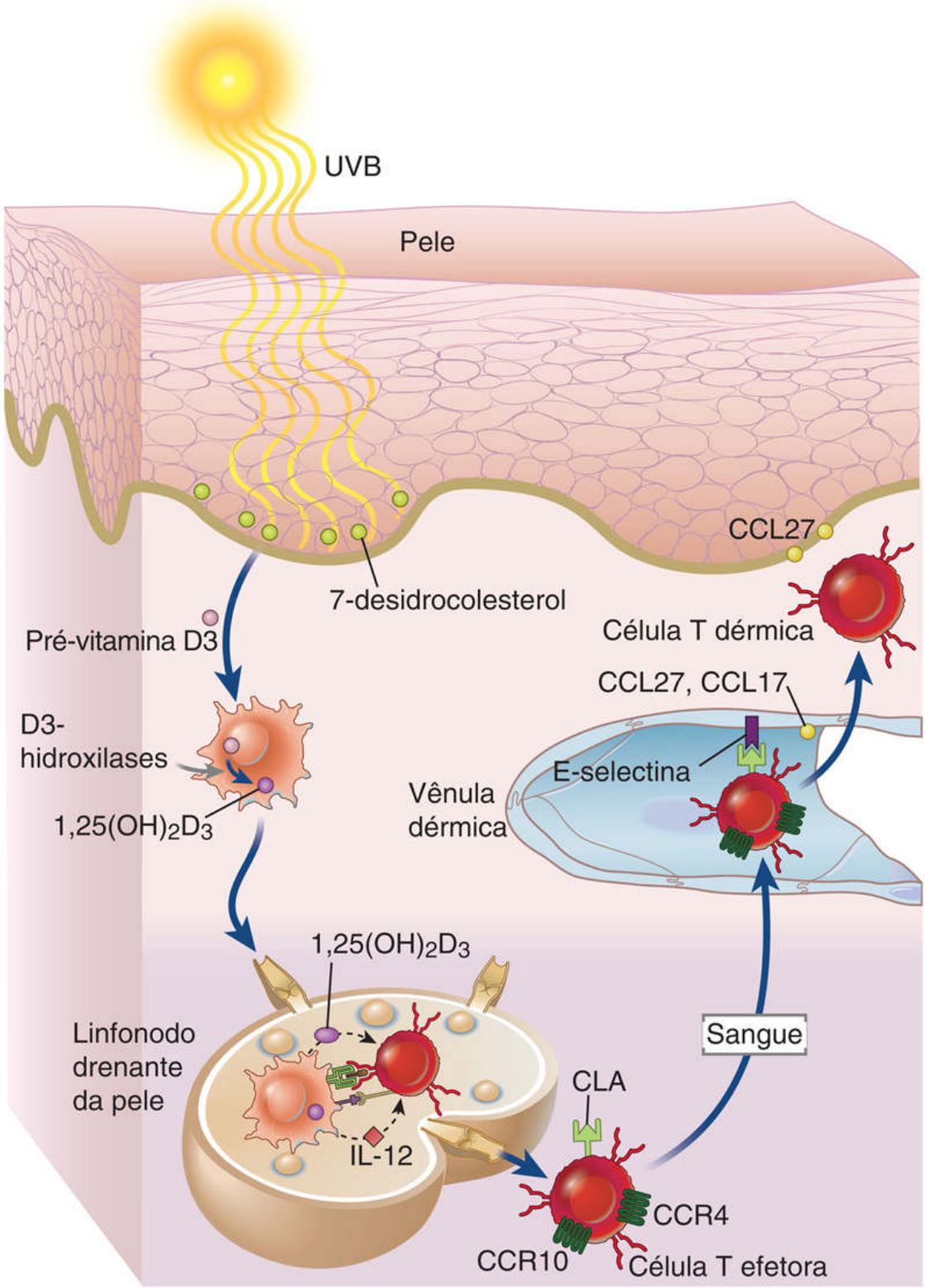


FIGURA 14.10 Propriedades de *homing* de linfócitos cutâneos. As propriedades de *homing* na pele de linfócitos efetores são imprimidas nos linfonodos drenantes da pele, onde essas células

sofrem diferenciação a partir de precursores *naive*. Os raios ultravioleta presentes na luz solar (UVB) estimulam a produção de vitamina D, que induz expressão de CCR10. A IL-12 induz expressão de ligante de E-selectina (CLA). Ainda, outros sinais induzem expressão de CCR4, CCR8 e CCR10. Essas moléculas de *homing* dirigem a migração das células T efetoras para o interior da pele. *CLA,* do inglês, *cutaneous lymphocyte antigen*.

Doenças Relacionadas a Respostas Imunes na Pele

Existem muitas doenças inflamatórias diferentes causadas por respostas imunes desreguladas ou indevidamente dirigidas que ocorrem na pele. Discutiremos apenas dois exemplos ilustrativos dessas doenças. Em adição a essas doenças inflamatórias, há diversos linfomas malignos que afetam primariamente a pele, a maioria dos quais derivam de células T que fazem *homing* para a pele.

A psoríase, um distúrbio inflamatório crônico da pele caracterizado por placas escamosas avermelhadas, é causada por respostas imunes mediadas por célula T e inatas desreguladas, desencadeadas por vários estímulos ambientais. Há evidências de que a psoríase é iniciada quando um traumatismo ou uma infecção induz respostas inatas por queratinócitos, levando assim à ativação de DCs e macrófagos residentes na pele. Exemplificando, no início da doença, queratinócitos danificados produzem catelicidina LL-37, que forma complexos com o DNA do hospedeiro e então ativa DCs plasmacitoides na pele via TLR9. As DCs plasmacitoides ativadas produzem IFN-α abundante, e a pele psoriática tem uma forte assinatura de interferon do tipo I (i. e., expressão de muitos genes induzidos por interferon). Um dos efeitos do IFN-α é a ativação de outras DCs que são induzidas a migrar para os linfonodos, ativam células T auxiliares de especificidade antigênica indeterminada, e induzem a diferenciação dessas células em células efetoras de *homing* para a pele. As células T circulam para a derme e promovem adicionalmente uma cascata inflamatória, além de uma persistente proliferação de queratinócitos. Durante essa fase da doença, a IL-17 é abundante na pele afetada, e isso reflete o que é frequentemente chamado inflamação do tipo 3, envolvendo diversos tipos celulares produtores de IL-17, entre os quais células Th17, células T $\gamma\delta$, células T $CD8^+$ e ILC3s. Anticorpos anti-IL17 são terapias efetivas para psoríase, assim como os inibidores de TNF. A IL-22, outra citocina do tipo 3, contribui para a proliferação epitelial na psoríase. Os antagonistas de IL-23 também parecem ser bastante efetivos no tratamento

da psoríase, talvez porque a IL-23 é requerida para indução de células Th17 secretoras de IL-17 e de IL-22, e também porque a IL-23 suprime a função Treg. A identidade dos antígenos reconhecidos pelas células T na psoríase é uma área de investigação ativa.

A dermatite atópica ou eczema é uma doença inflamatória crônica da pele caracterizada por erupções pruriginosas, as quais são dirigidas por respostas imunes adaptativas e inatas de tipo 2 (ILC2 e células Th2) ao dano epitelial e a antígenos ambientais. A dermatite atópica se desenvolve no início da vida em indivíduos geneticamente suscetíveis, quando existem defeitos subjacentes envolvendo a filagrina ou outro componente estrutural da epiderme levando ao comprometimento da função de barreira. Isso facilita uma maior entrada de antígeno na derme e a produção por queratinócitos de citocinas como IL-25, TSLP e IL-33. Essas citocinas ativam mastócitos e ILC2s, bem como promovem respostas Th2 $CD4^+$ a antígenos normalmente inócuos. Secundariamente, as respostas de tipo 2 estimulam a produção pela célula B de IgE específica para antígenos ambientais, enquanto a ativação de mastócitos IgE-dependente em resposta a esses antígenos (Capítulo 20) contribui para as manifestações clínicas da doença. A colonização da pele por *Staphylococcus aureus* comumente está associada a exacerbações na dermatite atópica, e as terapias para diminuição da carga bacteriana podem ser úteis, sugerindo que as respostas imunes às bactérias na pele podem contribuir para a inflamação nessa doença.

Tecidos Imunoprivilegiados

As respostas imunes e a inflamação associada em certas partes do corpo, incluindo cérebro, olhos, testículos, placenta e feto, trazem um alto risco de disfunção orgânica letal ou falência reprodutiva. Esses tecidos, que evoluíram para serem protegidos da resposta imune, em graus variáveis, são chamados **sítios imunoprivilegiados**. Peter Medawar cunhou o termo *imunoprivilégio* na década de 1940, para descrever a ausência de respostas imunes a tecidos transplantados no cérebro ou na câmara anterior do olho de animais de experimentação. Antígenos estranhos que evocariam uma resposta imune na maioria dos tecidos com frequência são tolerados nos sítios de imunoprivilégio. Os mecanismos subjacentes ao imunoprivilégio variam entre esses tecidos e não são totalmente conhecidos. Alguns desses mecanismos são similares aos mecanismos de regulação no intestino e na pele (discutidos anteriormente), bem como aos mecanismos de autotolerância (discutidos no Capítulo 15).

Imunoprivilégio no Olho, Cérebro e Testículo

O Olho

A visão, essencial para a sobrevivência da maioria dos mamíferos, pode ser facilmente comprometida pela inflamação no interior do olho. Os mecanismos que evoluíram para minimizar a probabilidade de respostas imunes e inflamação no olho foram mais completamente descritos na câmara anterior, um espaço preenchido por um fluido, localizado entre a córnea transparente (na frente) e a íris e a lente (atrás). A inflamação nessa câmara poderia levar à opacificação da córnea transparente e da lente, com perda da visão. Pelo menos algumas das propriedades de imunoprivilégio estudadas na câmara anterior também se aplicam a outros sítios oculares, como a cavidade vítrea e o espaço subretinal. As características anatômicas da câmara anterior que contribuem para o imunoprivilégio incluem as *tight junctions* da camada epitelial e a resistência a vazamentos dos vasos sanguíneos nos tecidos adjacentes à câmara anterior (a chamada barreira hemato-ocular); a natureza avascular da córnea; e a ausência de linfáticos drenando a câmara anterior, que limita o acesso do sistema imune adaptativo aos antígenos no olho. Existem vários fatores solúveis com propriedades imunossupressoras e anti-inflamatórias no humor aquoso que preenche a câmara anterior, incluindo os neuropeptídeos (hormônio

α-melanócito-estimulante, peptídeo vasointestinal, somatostatina), TGF-β e indolamina 2,3-dioxigenase (IDO, discutida adiante). As células que revestem a câmara anterior, incluindo o epitélio da íris e o endotélio, expressam constitutivamente Fas-ligante e PD-L1, que podem induzir morte ou inativação de células T, respectivamente.

O desvio imune associado à câmara anterior é um fenômeno no qual a introdução de um antígeno proteico estranho na porção anterior do olho induz ativamente a tolerância sistêmica a este antígeno. Esse fenômeno provavelmente diminui a probabilidade de serem montadas respostas imunes adaptativas a antígenos estranhos que possam estar localizados no olho. A tolerância é detectável como uma resposta inflamatória diminuída de células T ou de anticorpos ao mesmo antígeno, quando este é subsequentemente introduzido em sítios extraoculares, em comparação com a resposta em indivíduos que não receberam antígeno intraocular. O desvio imune associado à câmara anterior pode ser mediado por Treg. Estudos realizados em camundongos mostram que o antígeno introduzido na câmara anterior é transportado por macrófagos ou DCs, através do sangue, para o baço, e apresentado por células B esplênicas a células T *naive*, induzindo a geração de Tregs antígeno-específicas.

Em contraste com a tolerância induzida a antígenos estranhos introduzidos na câmara anterior, os autoantígenos no olho são isolados do sistema imune e a tolerância sistêmica a esses antígenos não é induzida. Essa ausência de tolerância se torna problemática apenas quando um traumatismo expõe os antígenos do olho ao sistema imune. Um exemplo notável disso é a oftalmia simpática, em que o trauma em um olho causa liberação de antígenos oculares levando à doença autoimune tanto no olho lesado como no olho não lesado. Provavelmente, embora os autoantígenos presentes no olho normal sejam inacessíveis ao sistema imune extraocular para a indução de tolerância, as células efetoras imunes e anticorpos gerados na periferia quando da lesão de um olho têm acesso e causam lesão no olho normal.

O Cérebro

A inflamação no cérebro pode levar ao desarranjo funcional e à morte de neurônios, com consequências desastrosas. As características anatômicas do cérebro que comprometem a iniciação da imunidade adaptativa aos antígenos incluem uma escassez de DCs, e a natureza das *tight junctions* entre as células endoteliais microvasculares cerebrais (a chamada barreira hematoencefálica), que comprometem a distribuição das células imunes e

mediadores inflamatórios para dentro do cérebro. Alguns mecanismos operantes no olho possivelmente também se aplicam ao cérebro, incluindo a ação dos neuropeptídeos. O cérebro é rico em macrófagos residentes, chamados micróglia, que se tornam ativados em resposta ao dano tecidual ou a infecções cerebrais. O limiar para a ativação dessas células, porém, pode ser mais alto do que o dos macrófagos em outros tecidos. Um mecanismo putativo para manutenção desse limiar alto é a sinalização pelo receptor de inibição CD200, que é expresso pela micróglia. O CD200 atua como seu próprio ligante e é altamente expresso no cérebro, nos neurônios e outros tipos celulares.

Ao contrário de afirmações anteriormente comuns baseadas em experimentos clássicos, há evidência de que a imunovigilância contra microrganismos ocorre no sistema nervoso central. Por exemplo, a frequência de algumas infecções oportunistas junto ao cérebro aumenta de modo significativo em pacientes imunossuprimidos. Pacientes tratados com certos anticorpos monoclonais que bloqueiam a adesão de linfócitos e monócitos às células endoteliais têm risco significativamente aumentado (ainda que pequeno) de ativação de vírus JC latente, levando a uma doença uniformemente fatal no sistema nervoso central chamada leucoencefalopatia multifocal progressiva. Esse achado sugere que o trânsito de células T ou de monócitos para dentro do cérebro é necessário à manutenção de vírus latentes sob controle, demonstrandoo que o cérebro não é um sítio rigorosamente imunoprivilegiado. Consistente com a imunovigilância no cérebro é a recente descoberta de vasos linfáticos nas meninges cerebrais que drenam fluídos, moléculas e células imunes do líquido cerebrospinal para os linfonodos cervicais.

Os Testículos

O imunoprivilégio nos testículos serve para limitar a inflamação que pode comprometer a fertilidade masculina. Muitos autoantígenos no testículo masculino são expressos pela primeira vez no momento da puberdade, bem depois do desenvolvimento de um sistema imune competente capaz de gerar células B e T antígeno-específicas testiculares. Portanto, o imunoprivilégio no testículo também pode servir para prevenir a autoimunidade. Assim como o olho e o cérebro, o testículo tem uma barreira hemato-tecidual que limita a distribuição de células e moléculas para os sítios de espermatogênese. Essa barreira não é formada por células endoteliais, e sim por células de Sertoli, as quais revestem a camada externa dos túbulos seminíferos onde a espermatogênese ocorre. O *milieu*

hormonal do testículo, rico em andrógenos, exerce influência anti-inflamatória sobre os macrófagos. O TGF-β é produzido por células de Leydig, Sertoli e peritubulares, e provavelmente contribui para a imunossupressão local.

Imunoprivilégio do Feto de Mamífero

Em mamíferos eutérios (mamíferos com placenta), o feto expressa genes de herança paterna que são estranhos à mãe, porém os fetos normalmente não são rejeitados pela mãe. Em essência, o feto é um aloenxerto de ocorrência natural, todavia protegido da rejeição de enxertos. (A rejeição de aloenxerto é discutida no Capítulo 17.) Está claro que a mãe é exposta aos antígenos fetais durante a gravidez, porque anticorpos maternos contra moléculas de MHC paternas são facilmente detectáveis. Evidentemente, houve uma pressão seletiva muito forte que levou à evolução dos mecanismos que protegem o feto do sistema imune materno, embora tais mecanismos ainda sejam pouco conhecidos. Provavelmente, muitas características especiais moleculares e de barreira da placenta, bem como a imunossupressão local, contribuem.

Várias observações experimentais indicam que a localização anatômica do feto é um fator decisivo na ausência de rejeição. Exemplificando, animais prenhes conseguem reconhecer e rejeitar aloenxertos singênicos ao feto posicionado em sítios extrauterinos, sem comprometer a sobrevivência fetal. Blastocistos fetais totalmente alogênicos nos quais os genes maternos estão ausentes podem se desenvolver com sucesso em uma mãe grávida ou pseudográvida. Portanto, nem os genes maternos específicos nem os genes paternos são necessários para a sobrevivência do feto. A hiperimunização da mãe com células contendo antígenos paternos não compromete o desenvolvimento placentário e fetal.

A falha em rejeitar o feto se concentra na região de contato físico entre a mãe e o feto. Os tecidos fetais da placenta que contatam mais intimamente a mãe são compostos por trofoblastos vasculares, os quais ficam expostos ao sangue materno para fins de mediação de trocas gasosas e suprimento de nutrientes, ou por trofoblastos de sítio de implantação, que infiltram difusamente o revestimento uterino (decídua) para fins de ancoragem da placenta à mãe.

Uma explicação simples para a sobrevida fetal é que as células trofoblásticas falham em expressar moléculas de MHC paternas. Moléculas de classe II não foram detectadas em células trofoblásticas. Em camundongos, as células de implantação trofoblástica, e não o trofoblasto

vascular, expressam moléculas de MHC classe I paternas. Em seres humanos, a situação pode ser mais complexa no sentido de que as células trofoblásticas somente expressam uma molécula de classe I não polimórfica chamada HLA-G. Essa molécula pode estar envolvida na proteção das células trofoblásticas contra a lise mediada pelas células NK maternas. Uma subpopulação especializada de células NK chamadas células NK uterinas constituem o principal tipo de linfócitos presentes nos sítios de implantação, e a produção de IFN-γ por essas células é essencial ao desenvolvimento decidual. O modo como as células NK uterinas são estimuladas e seu papel nas respostas maternas a aloantígenos fetais são desconhecidos. Mesmo que as células trofoblásticas expressem moléculas de MHC clássicas, podem não ter moléculas coestimuladoras e falhar em atuar como células apresentadoras de antígeno.

A decídua uterina pode ser um sítio onde as respostas imunes são funcionalmente inibidas. Sustentando essa ideia está a observação de que a decídua murina é altamente suscetível à infecção por *Listeria monocytogenes* e incapaz de suportar uma resposta de hipersensibilidade do tipo tardio. A base do imunoprivilégio claramente não é uma simples barreira anatômica, porque o sangue materno está em extensivo contato com as células trofoblásticas. Em vez disso, é provável que a barreira imune seja criada por inibição funcional, atribuível a múltiplos mecanismos.

A tolerância materna do feto pode ser mediada por Tregs. Evidência experimental sugere que as Tregs previnem reações imunes contra antígenos de origem paterna que não são expressos pela mãe. Os antígenos fetais induzem Tregs FoxP3$^+$ de vida longa em camundongos, e a depleção dessas células resulta em perda fetal. Durante a gravidez, aumenta o número de Tregs sistêmicas e deciduais nas mães, e Tregs são encontradas em abundância no feto. De fato, os mamíferos eutérios desenvolveram uma alteração transposon-mediada em uma sequência reguladora do gene *FOXP3* que permite a essas espécies gerar Tregs periféricas estáveis. A região reguladora de FoxP3 está ausente nos primeiros vertebrados ou até em mamíferos metatérios, como os cangurus e *wallabies* que carregam seus filhotes. A contribuição das Tregs na gestação humana está sob ativa investigação, assim como a possibilidade de defeitos em Treg servirem de base para os abortos espontâneos recorrentes.

As respostas imunes ao feto podem ser reguladas pelas concentrações locais de triptofano e seus metabólitos na decídua, as quais inibem as respostas de células T. A enzima IDO cataboliza o triptofano, gerando um

subproduto — a quinurenina. O triptofano é requerido para as células em proliferação, inclusive linfócitos, enquanto a quinurenina é tóxica para essas células. Essas observações levaram à hipótese de que as respostas de células T ao feto normalmente são bloqueadas porque os níveis de triptofano decidual são mantidos baixos ou os níveis de metabolitos tóxicos produzidos pela IDO são altos.

Vários outros mecanismos também podem inibir a resposta imune materna do feto, incluindo a expressão de FasL pelas células trofoblásticas fetais, com consequente promoção de apoptose de linfócitos maternos ativados expressando Fas; e a indução pela galectina-1 presente na decídua de DCs tolerogênicas que facilitam a geração de Tregs.

Os trofoblastos e a decídua também podem ser resistentes ao dano mediado por complemento. Em camundongos, esses tecidos expressam um inibidor de C3 e C4 chamado Crry. Embriões deficientes de Crry morrem antes do nascimento e exibem evidência de ativação de complemento em células trofoblásticas. Portanto, esse inibidor pode bloquear o dano mediado por aloanticorpos e complemento maternos. Todavia, Crry ou moléculas equivalentes não foram encontradas em seres humanos.

Resumo

- Os sistemas imunes regionais, incluindo aqueles no trato gastrintestinal, trato respiratório e pele, são coleções especializadas de células imunes inatas e adaptativas em locais anatômicos particulares, que exercem funções protetoras e reguladora exclusivas a estes sítios.
- O sistema imune gastrintestinal tem de lidar com a presença de trilhões de bactérias comensais no lúmen intestinal, prevenindo sua invasão e tolerando sua presença no lúmen, ao mesmo tempo em que identifica e responde a organismos patogênicos numericamente raros.
- No sistema gastrintestinal, a imunidade inata é mediada por células de revestimento epitelial de mucosa, as quais impedem a invasão microbiana por meio de *tight junctions* intercelulares, secreção de muco e produção de moléculas antimicrobianas, como as defensinas. As células efetoras imunes inatas na lâmina própria incluem macrófagos, DCs, ILCs e mastócitos. Os linfócitos intraepiteliais, incluindo as células T $\gamma\delta$, conferem defesa contra microrganismos comumente encontrados na barreira epitelial intestinal.
- O sistema imune adaptativo no trato intestinal inclui coleções subepiteliais de tecidos linfoides chamados GALT, como as tonsilas orofaríngeas, placas de Peyer no íleo, e coleções semelhantes no cólon. As células M presentes no revestimento epitelial amostram antígenos no lúmen e os transportam até as células apresentadoras de antígeno no GALT. As DCs na lâmina própria estendem processos ao longo das células de revestimento epitelial, para mostrar antígenos luminais.
- Os linfócitos B e T efetores que se diferenciam a partir de células T *naive* no GALT ou nos linfonodos mesentéricos entram na circulação e migram seletivamente de volta para a lâmina própria intestinal.
- A imunidade humoral no trato gastrintestinal é dominada pela secreção de IgA no lúmen, onde os anticorpos neutralizam patógenos potencialmente invasores. As células B no GALT e nos linfonodos mesentéricos se diferenciam em plasmócitos secretores de IgA por mecanismos T-dependentes e T-independentes,

enquanto os plasmócitos migram para a lâmina própria abaixo da barreira epitelial e secretam IgA. A IgA dimerizada é transportada ao longo do epitélio pelo receptor poli-Ig, e liberada no lúmen. A IgA também é secretada no leite materno e medeia a imunidade passiva no intestino de bebês em fase de amamentação.

- As células Th17 no trato intestinal secretam IL-17 e IL-22, as quais intensificam a função de barreira epitelial. As células Th2 são importantes na defesa contra parasitas intestinais. Alterações na flora bacteriana influenciam o equilíbrio entre as respostas de diferentes subpopulações de célula T auxiliar, tanto no intestino como sistemicamente.
- As respostas imunes a organismos comensais e antígenos alimentares no lúmen do trato intestinal são minimizadas pela expressão seletiva de receptores de reconhecimento de padrão nas superfícies basolaterais das células de revestimento epiteliais, e pela geração de células T reguladoras que suprimem as respostas imunes adaptativas. TGF-β, IL-10 e IL-2 são essenciais para manter a homeostasia imunológica na parede intestinal. A tolerância sistêmica a alguns antígenos pode ser induzida alimentando camundongos com os antígenos, num fenômeno chamado tolerância oral.
- Várias doenças intestinais estão relacionadas a respostas imunes anormais, incluindo EI (doença de Crohn e colite ulcerativa), em que as respostas imunes inata e adaptativa à flora intestinal normal não são reguladas de forma adequada; e a enteropatia do glúten ou doença celíaca, causada por respostas humorais ou celulares a proteínas do trigo da dieta.
- A imunidade de mucosa no sistema respiratório protege contra patógenos transportados pelo ar e é causa de doenças alérgicas de vias aéreas como a asma. A imunidade inata na árvore brônquica depende do revestimento epitelial ciliado produtor de muco, que movimenta o muco contendo microrganismos capturados para fora dos pulmões. As defensinas, proteínas surfactantes e macrófagos alveolares exercem funções antimicrobianas e anti-inflamatórias. Treg e citocinas imunossupressoras são importantes para a prevenção de respostas prejudiciais a organismos não patogênicos ou outros antígenos inalados.
- O sistema imune cutâneo defende contra a invasão microbiana através da pele e suprime as respostas contra numerosos organismos comensais. A epiderme fornece uma barreira física à

invasão microbiana. Os queratinócitos secretam defensinas e citocinas inflamatórias em resposta a produtos microbianos. A derme contém uma população mista de mastócitos, macrófagos e DCs que respondem aos microrganismos e à lesão, e medeiam as respostas inflamatórias.

- As DCs da pele medeiam as respostas imunes inatas e transportam antígenos microbianos e ambientais que entram pela pele até os linfonodos, onde iniciam respostas de células T. As células T ativadas nos linfonodos drenantes da pele expressam receptores de quimiocina e moléculas de adesão que favorecem o *homing* de volta para a pele.
- As células de memória efetoras $CD4^+$ ou $CD8^+$ geradas em resposta a infecções cutâneas ou comensais migram e permanecem na derme e epiderme por longos períodos de tempo. Essas células de memória residentes exibem fenótipos Th1, Th2, Th17 e CTL, e são importantes para a defesa contra diferentes tipos de patógenos invasores da pele, podendo contribuir para dermatoses inflamatórias, como psoríase (células Th17) e dermatite atópica (células Th2). As células Tregs de memória residentes também estão presentes na pele e provavelmente mantêm a tolerância aos organismos comensais da pele.
- Os sítios imunoprivilegiados, que são tecidos onde as respostas imunes não são prontamente iniciadas, incluem o cérebro, câmara anterior do olho e testículos. Os mecanismos do imunoprivilégio incluem as *tight junctions* das células endoteliais nos vasos sanguíneos, a produção local de citocinas imunossupressoras, e a expressão de moléculas de superfície celular que inativam ou matam linfócitos.
- A tolerância imunológica materna ao feto de mamífero em desenvolvimento, o qual expressa antígenos alogênicos paternos, depende de mecanismos que atuam localmente, na interface materno-fetal da placenta. Entre os possíveis mecanismos, estão: ausência de expressão de MHC nos trofoblastos fetais, ações de Treg e depleção IDO-mediada local do triptofano necessário para o crescimento de linfócitos e geração de um subproduto tóxico.

Referências Sugeridas

Imunidade de Mucosa, Geral

Brandtzaeg P. Mucosal immunity: induction, dissemination, and effector functions. *Scand J Immunol*. 2009;70:505–515.

Doss M, White MR, Tecle T, Hartshorn KL. Human defensins and LL-37 in mucosal immunity. *J Leukoc Biol*. 2010;87:79–92.

Dubin PJ, Kolls JK. Th17 cytokines and mucosal immunity. *Immunol Rev*. 2008;226:160–171.

Gensollen T, Iyer SS, Kasper DL, Blumberg RS. How colonization by microbiota in early life shapes the immune system. *Science*. 2016;352:539–544.

Maynard CL, Weaver CT. Intestinal effector T cells in health and disease. *Immunity*. 2009;31:389–400.

Sheridan BS, Lefrancois L. Regional and mucosal memory T cells. *Nat Immunol*. 2011;12:485–491.

Sistema Imune Gastrintestinal

Abreu MT. Toll-like receptor signalling in the intestinal epithelium: how bacterial recognition shapes intestinal function. *Nat Rev Immunol*. 2010;10:131–144.

Agace W. Generation of gut-homing T cells and their localization to the small intestinal mucosa. *Immunol Lett*. 2010;128:21–23.

Bekiaris V, Persson EK, Agace WW. Intestinal dendritic cells in the regulation of mucosal immunity. *Immunol Rev*. 2014;260:86–101.

Bollrath J, Powrie FM. Controlling the frontier: regulatory T-cells and intestinal homeostasis. *Semin Immunol*. 2013;25:352–357.

Brestoff JR, Artis D. Commensal bacteria at the interface of host metabolism and the immune system. *Nat Immunol*. 2013;14:676–684.

Brown EM, Sadarangani M, Finlay BB. The role of the immune system in governing host-microbe interactions in the intestine. *Nat Immunol*. 2013;14:660–667.

Chewning JH, Weaver CT. Development and survival of Th17 cells within the intestines: the influence of microbiome- and diet-derived signals. *J Immunol*. 2014;193:4769–4777.

Duerkop BA, Vaishnava S, Hooper LV. Immune responses to the microbiota at the intestinal mucosal surface. *Immunity*. 2009;31:368–376.

Eberl G, Lochner M. The development of intestinal lymphoid tissues at the interface of self and microbiota. *Mucosal Immunol*. 2009;2:478–485.

Garrett WS, Gordon JI, Glimcher LH. Homeostasis and inflammation in the intestine. *Cell*. 2010;140:859–870.

Gensollen T, Iyer SS, Kasper DL, Blumberg RS. How colonization by microbiota in early life shapes the immune system. *Science*. 2016;352:539–544.

Grencis RK, Humphreys NE, Bancroft AJ. Immunity to gastrointestinal nematodes: mechanisms and myths. *Immunol Rev*. 2014;260:183–205.

Honda K, Littman DR. The microbiota in adaptive immune homeostasis and disease. *Nature*. 2016;535:75–84.

Hooper LV, Macpherson AJ. Immune adaptations that maintain homeostasis with the intestinal microbiota. *Nat Rev Immunol*. 2010;10:159–169.

Maynard CL, Elson CO, Hatton RD, Weaver CT. Reciprocal interactions of the intestinal microbiota and immune system. *Nature*. 2012;489:231–241.

Mowat AM, Agace WW. Regional specialization within the intestinal immune system. *Nat Rev Immunol*. 2014;14:667–685.

Nagano Y, Itoh K, Honda K. The induction of Treg cells by gut-indigenous Clostridium. *Curr Opin Immunol*. 2012;24:392–397.

Ohno H. Intestinal M cells. *J Biochem*. 2016;159:151–160.

Pelaseyed T, Bergstrom JH, Gustafsson JK, et al. The mucus and mucins of the goblet cells and enterocytes provide the first defense line of the gastrointestinal tract and interact with the immune system. *Immunol Rev*. 2014;260:8–20.

Rescigno M, Di Sabatino A. Dendritic cells in intestinal homeostasis and disease. *J Clin Invest*. 2009;119:2441–2450.

Sender R, Fuchs S, Milo R. Are we really vastly outnumbered? Revisiting the ratio of bacterial to host cells in humans. *Cell*. 2016;164:337–340.

Shale M, Schiering C, Powrie F. CD4(+) T-cell subsets in intestinal inflammation. *Immunol Rev*. 2013;252:164–182.

Varol C, Zigmond E, Jung S. Securing the immune tightrope: mononuclear phagocytes in the intestinal lamina propria. *Nat Rev Immunol*. 2010;10:415–426.

Produção de Anticorpo no Sistema Imune Gastrintestinal

Cerutti A, Rescigno M. The biology of intestinal immunoglobulin A responses. *Immunity*. 2008;28:740–750.

Fagarasan S, Kawamoto S, Kanagawa O, Suzuki K. Adaptive immune regulation in the gut: T cell-dependent and T cell-independent IgA synthesis. *Annu Rev Immunol*. 2010;28:243–273.

Gutzeit C, Magri G, Cerutti A. Intestinal IgA production and its role in host-microbe interaction. *Immunol Rev*. 2014;260:76–85.

Macpherson AJ, McCoy KD, Johansen FE, Brandtzaeg P. The immune geography of IgA induction and function. *Mucosal Immunol*. 2008;1:11–22.

Mora JR, von Andrian UH. Differentiation and homing of IgA-secreting cells. *Mucosal Immunol*. 2008;1:96–109.

Slack E, Balmer ML, Fritz JH, Hapfelmeier S. Functional flexibility of intestinal IgA—broadening the fine line. *Front Immunol*. 2012;3:100.

Doenças do Sistema Imune Gastrintestinal

De Souza HSP, Fiocchi C. Immunopathogenesis of IBD: current state of the art. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2016;13:13–27.

Jabri B, Sollid LM. Tissue-mediated control of immunopathology in coeliac disease. *Nat Rev Immunol*. 2009;9:858–870.

Kaser A, Zeissig S, Blumberg RS. Inflammatory bowel disease. *Annu Rev Immunol*. 2010;28:573–621.

Liu TC, Stappenbeck TS. Genetics and Pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Annu Rev Pathol*. 2016;11:127–148.

Stamnaes J, Sollid LM. Celiac disease: autoimmunity in response to food antigen. *Semin Immunol*. 2015;27:343–352.

Sistema Imune da Mucosa Respiratória

Chen K, Kolls JK. T cell-mediated host immune defenses in the lung. *Annu Rev Immunol*. 2013;31:605–633.

Holt PG, Strickland DH, Wikstrom ME, Jahnsen FL. Regulation of immunological homeostasis in the respiratory tract. *Nat Rev Immunol*. 2008;8:142–152.

Hussell T, Bell TJ. Alveolar macrophages: plasticity in a tissue-specific context. *Nat Rev Immunol*. 2014;14:81–93.

Lambrecht BN, Hammad H. Biology of lung dendritic cells at the origin of asthma. *Immunity*. 2009;31:412–424.

Sistema Imune da Pele

Belkaid Y, Tamoutounour S. The influence of skin microorganisms on cutaneous immunity. *Nat Rev Immunol*. 2016;16:353–366.

Clark RA. Skin-resident T cells: the ups and downs of onsite immunity. *J Invest Dermatol*. 2010;130:362–370.

Di Meglio P, Perera GK, Nestle FO. The multitasking organ: recent insights into skin immune function. *Immunity*. 2011;35:857–869.

Kupper TS, Fuhlbrigge RC. Immune surveillance in the skin: mechanisms and clinical consequences. *Nat Rev Immunol*. 2004;4:211–222.

Metz M, Maurer M. Innate immunity and allergy in the skin. *Curr Opin Immunol*. 2009;21:687–693.

Nestle FO, Di Meglio P, Qin JZ, Nickoloff BJ. Skin immune sentinels in health and disease. *Nat Rev Immunol*. 2009;9:679–691.

Romani N, Clausen BE, Stoitzner P. Langerhans cells and more: langerin-expressing dendritic cell subsets in the skin. *Immunol Rev*. 2010;234:120–141.

Outros Sistemas Imunes Especializados

Erlebacher A. Why isn't the fetus rejected? *Curr Opin Immunol*. 2001;13:590–593.

Streilein JW. Ocular immune privilege: the eye takes a dim but practical view of immunity and inflammation. *J Leukoc Biol*. 2003;74:179–185.

Trowsdale J, Betz AG. Mother's little helpers: mechanisms of maternal-fetal tolerance. *Nat Immunol*. 2006;7:241–246.

von Rango U. Fetal tolerance in human pregnancy—a crucial balance between acceptance and limitation of trophoblast invasion. *Immunol Lett*. 2008;115:21–32.

CAPÍTULO 15

Tolerância Imunológica e Autoimunidade

VISÃO GERAL DA TOLERÂNCIA IMUNOLÓGICA

TOLERÂNCIA DOS LINFÓCITOS T
- Tolerância Central das Células T
- Tolerância Periférica das Células T
- Fatores que Determinam a Tolerogenicidade de Autoantígenos

TOLERÂNCIA DOS LINFÓCITOS B
- Tolerância Central das Células B
- Tolerância Periférica das Células B

TOLERÂNCIA A MICRORGANISMOS COMENSAIS E OUTROS ANTÍGENOS ESTRANHOS

MECANISMOS DE AUTOIMUNIDADE
- Características Gerais das Doenças Autoimunes
- Anormalidades Imunológicas que Levam à Autoimunidade
- Bases Genéticas da Autoimunidade
- Papel das Infecções na Autoimunidade
- Outros Fatores na Autoimunidade

RESUMO

A tolerância imunológica é definida como a não responsividade a um antígeno, induzida pela exposição prévia a esse mesmo antígeno. O termo surgiu com base em observações experimentais de que animais que já

haviam entrado em contato com um antígeno em condições particulares não responderiam, ou seja, tolerariam, o mesmo antígeno em exposições subsequentes. Quando encontram antígenos, os linfócitos específicos podem ser ativados, induzindo respostas imunes, ou podem ser inativados ou eliminados, levando à tolerância. O mesmo antígeno pode induzir uma resposta imune ou tolerância, dependendo das condições de exposição e da presença ou ausência de outros estímulos concomitantes, tais como coestimuladores. Os antígenos que induzem tolerância são chamados de tolerógenos, ou antígenos tolerogênicos, para distingui-los dos imunógenos que geram imunidade. A tolerância aos autoantígenos, também chamada de **autotolerância**, é uma propriedade fundamental do sistema imunológico normal, e a falha na autotolerância resulta em reações imunes contra antígenos próprios (autoantígenos ou antígenos autólogos). Essas reações são denominadas **autoimunidade**, e as doenças que causam são chamadas **doenças autoimunes**. A importância da autotolerância para a saúde dos indivíduos foi observada desde os primórdios da Imunologia. No Capítulo 1, o conceito de discriminação do próprio/não próprio foi introduzido, o qual consiste na capacidade do sistema imune em reconhecer e responder a antígenos estranhos, mas não aos autoantígenos. Macfarlane Burnet, dentre os primeiros pesquisadores a propor a hipótese da seleção clonal, adicionou a dedução de que linfócitos específicos para autoantígenos são eliminados para prevenir reações imunológicas do indivíduo contra seus próprios tecidos. A elucidação dos mecanismos de autotolerância é a chave para compreender a patogênese da autoimunidade.

Neste capítulo, será discutida a tolerância imunológica, principalmente no contexto da autotolerância, e como a autotolerância pode falhar, resultando em autoimunidade. Também serão considerados a tolerância a antígenos estranhos e o potencial de indução da tolerância como uma estratégia terapêutica para as doenças alérgicas e autoimunes, bem como na prevenção da rejeição de células e órgãos transplantados.

Visão Geral da Tolerância Imunológica

Há diversas características de tolerância nas populações de linfócitos T e B. É importante explorar os princípios gerais antes de discutir os mecanismos específicos de tolerância nesses linfócitos.

Os mecanismos de tolerância eliminam ou inativam linfócitos que expressam receptores de alta afinidade para autoantígenos. Todos os indivíduos herdam essencialmente os mesmos segmentos gênicos do receptor antigênico, que se recombinam e são expressos pelos linfócitos tão logo essas células se desenvolvam a partir de células precursoras. As especificidades dos receptores codificados pelos genes recombinados são aleatórias e não são influenciadas pelo que é estranho ou próprio no organismo de cada indivíduo (Capítulo 8). Não é de surpreender que, durante esse processo de geração de um repertório grande e diversificado, algumas células T e B em desenvolvimento em todos os indivíduos possam expressar receptores capazes de reconhecer moléculas normais daquele indivíduo (p. ex.: autoantígenos). Portanto, existe um risco de que os linfócitos reajam contra as células e tecidos daquele indivíduo, causando doença. Os mecanismos de tolerância imunológica evoluíram para prevenir tais reações.

A tolerância é antígeno-específica, resultante do reconhecimento antigênico pelos clones individuais de linfócitos. Isso contrasta com a imunossupressão terapêutica, a qual afeta linfócitos com muitas especificidades. Os avanços essenciais que permitiram aos imunologistas estudarem a tolerância foram a capacidade de induzir esse fenômeno em animais mediante exposição a antígenos definidos sob condições variadas, e a análise da sobrevivência e das funções dos linfócitos que encontraram os antígenos. Na década de 1950, Peter Medawar e colaboradores mostraram que quando camundongos neonatos de uma linhagem são expostos a células de outras linhagens, tornam-se não responsivos a enxertos de pele subsquentes oriundos da linhagem doadora. Estudos posteriores mostraram que a tolerância poderia ser induzida não somente por células estranhas, mas também por proteínas e outros antígenos. Qualquer antígeno pode ser um imunógeno ou um tolerógeno dependendo de numerosos fatores, como exposição ao antígeno durante a maturação dos linfócitos e reconhecimento pelos linfócitos específicos na presença ou ausência de respostas imunes inatas. Esses fatores são discutidos posteriormente no capítulo.

A autotolerância pode ser induzida em linfócitos imaturos autorreativos nos órgãos linfoides geradores (tolerância central) ou em linfócitos maduros nos sítios periféricos (tolerância periférica) (Fig. 15.1). A tolerância central garante que o repertório de linfócitos *naive* maduros se torne incapaz de responder a autoantígenos que são expressos nos órgãos linfoides geradores (o timo para as células T, e a medula óssea para os linfócitos B, também chamados de órgãos linfoides centrais). Entretanto, a tolerância central não é perfeita, e muitos linfócitos autorreativos completam sua maturação. Portanto, os mecanismos de tolerância periférica são necessários para prevenir a ativação desses linfócitos potencialmente perigosos.

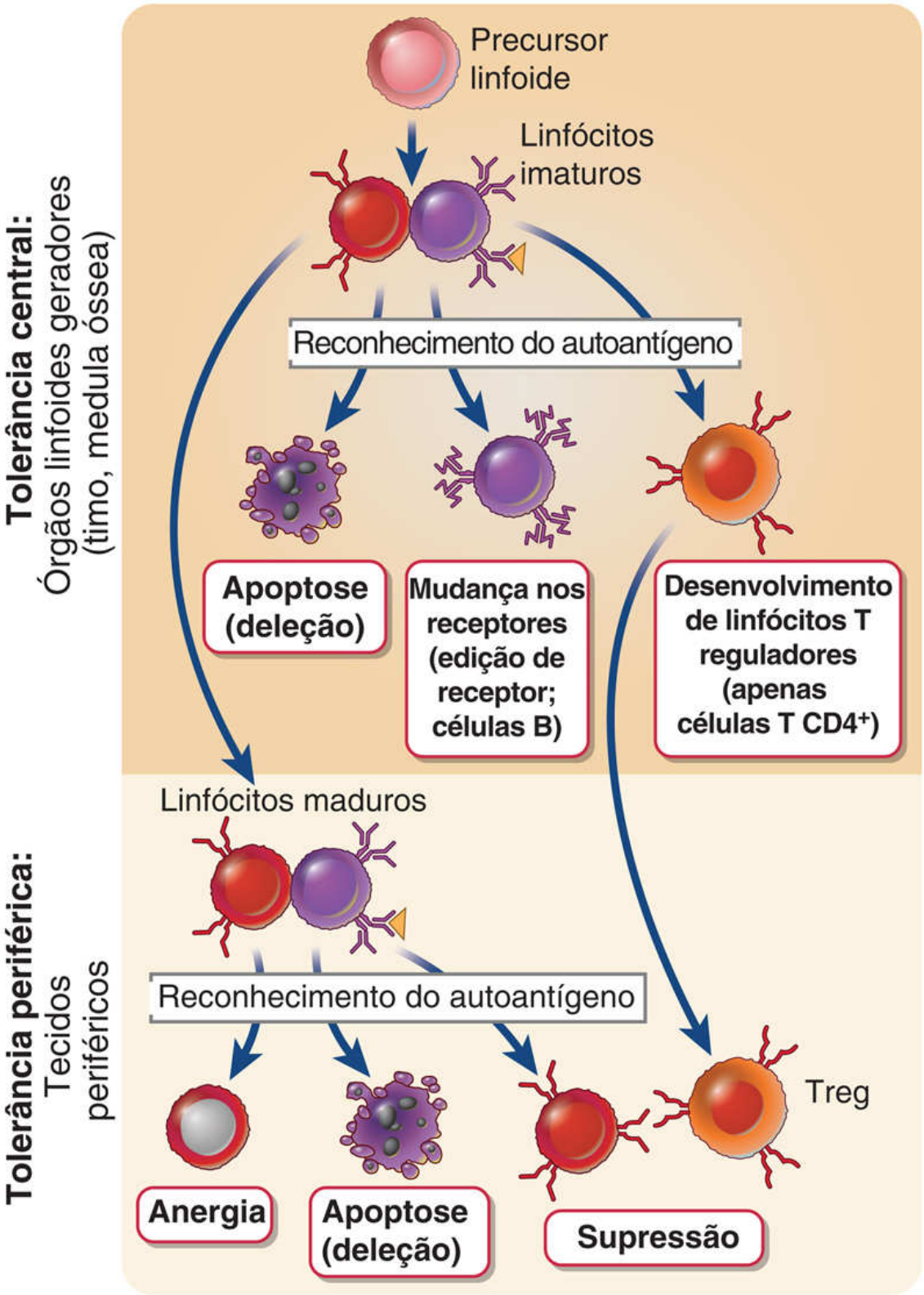


FIGURA 15.1 **Tolerância central e periférica a autoantígenos.** Na tolerância central, os linfócitos imaturos específicos para autoantígenos podem encontrar tais antígenos nos órgãos linfoides

geradores (centrais) e são deletados, mudam sua especificidade (somente células B) ou (no caso das células T $CD4^+$) diferenciam-se em linfócitos reguladores (Tregs). Na tolerância periférica, alguns linfócitos autorreativos podem amadurecer e entrar nos tecidos periféricos, onde podem ser inativados ou deletados ao encontrarem autoantígenos nesses tecidos, ou podem ser suprimidos pelas Tregs (tolerância periférica). Note que as células T reconhecem antígenos apresentados pelas células apresentadoras de antígenos (APCs, *não mostrado*).

A tolerância central ocorre durante um estágio da maturação dos linfócitos, quando um encontro com o antígeno pode levar à morte celular ou à substituição de um receptor antigênico autorreativo por outro não autorreativo. Uma vez que os linfócitos estão amadurecendo nos órgãos linfoides geradores, células imaturas podem encontrar antígenos nesses locais. Os antígenos que estão presentes nesses órgãos são majoritariamente próprios e não estranhos, porque os antígenos estranhos (p. ex.: microbianos) que entram a partir do ambiente externo são tipicamente capturados e levados para os órgãos linfoides periféricos, como linfonodos, baço e tecidos linfoides associados às mucosas, não sendo concentrados no timo ou na medula óssea. Os antígenos normalmente presentes no timo e na medula óssea incluem autoantígenos ubíquos, ou amplamente disseminados, alguns dos quais podem ser expressos pelas células do timo e outros podem ser transportados pelo sangue. Além disso, muitos antígenos periféricos tecido-específicos são expressos no timo por um mecanismo especial descrito posteriormente. Portanto, nos órgãos linfoides geradores, os linfócitos imaturos que reconhecem antígenos são tipicamente células específicas para autoantígenos e não para antígenos estranhos. Os destinos dos linfócitos imaturos que reconhecem autoantígenos com alta afinidade serão descritos mais adiante (Fig. 15.1).

Linfócitos maduros que reconhecem autoantígenos nos tecidos periféricos se tornam incapazes de serem ativados pela reexposição àquele antígeno ou morrem por apoptose. Os mecanismos de tolerância periférica são importantes para a manutenção da não responsividade a autoantígenos expressos em tecidos periféricos e não nos órgãos linfoides geradores, e para a tolerância a autoantígenos expressos somente na vida adulta, depois que muitos linfócitos maduros específicos para esses antígenos já tenham sido gerados. Conforme mencionado anteriormente, os mecanismos periféricos também podem servir como um complemento para os mecanismos centrais, os quais não eliminam todos os linfócitos

autorreativos. Um mecanismo importante para a indução de tolerância periférica é o reconhecimento do antígeno sem coestimulação ou "segundos sinais".

A tolerância periférica também é mantida pelas células T reguladoras (Tregs) que suprimem ativamente a ativação dos linfócitos específicos para antígenos próprios e outros antígenos. A supressão mediada pelas células Tregs ocorre nos órgãos linfoides secundários e nos tecidos não linfoides.

Alguns autoantígenos são sequestrados do sistema imune, e outros antígenos são ignorados. Antígenos podem ser sequestrados do sistema imunológico por barreiras anatômicas, como nos testículos e nos olhos, e assim, não podem ligar receptores antigênicos (Capítulo 14). Em modelos experimentais, alguns autoantígenos estão disponíveis para o reconhecimento pelos linfócitos, mas, por motivos desconhecidos, falham em elicitar qualquer resposta e são funcionalmente ignorados. A importância desse fenômeno de ignorância para a manutenção da autotolerância ainda não está estabelecida.

A indução da tolerância imunológica é uma potencial abordagem terapêutica para a prevenção de respostas imunes prejudiciais. Há grande interesse na indução da tolerância para o tratamento de doenças autoimunes e alérgicas, bem como para prevenir a rejeição de órgãos transplantados, sendo que ensaios clínicos estão sendo conduzidos nesse sentido. A indução da tolerância também pode ser útil para prevenir reações imunológicas contra os produtos de novos genes expressos em protocolos de terapia gênica, para prevenir reações a proteínas injetadas em pacientes com deficiências dessas proteínas (p. ex.: hemofílicos tratados com Fator VIII) e para promover a aceitação dos transplantes de células-tronco.

Abordagens experimentais, especialmente a criação de camundongos geneticamente modificados, proveram modelos valiosos para a análise da autotolerância, e muitos dos nossos conceitos atuais baseiam-se nos estudos com esses modelos. Além disso, por meio da identificação de mutações e polimorfismos gênicos que podem estar associados à autoimunidade em camundongos e humanos, foi possível deduzir alguns dos mecanismos da autotolerância. Contudo, ainda não se sabe quais autoantígenos induzem tolerância central ou periférica (ou quais são ignorados). E mais importante, ainda não se sabe quais mecanismos de tolerância podem falhar nas doenças autoimunes humanas mais comuns, permanecendo um desafio essencial ao entendimento da autoimunidade.

Nas próximas seções, serão discutidas as tolerâncias central e periférica, primeiramente nas células T e depois nos linfócitos B, embora muitos aspectos desses processos sejam comuns a ambas as linhagens.

Tolerância dos Linfócitos T

Grande parte do nosso entendimento sobre a tolerância aos autoantígenos está baseada no estudo desse processo em linfócitos T. Em parte, isso ocorre porque os imunologistas desenvolveram modelos experimentais elegantes que são instrutivos para estudar a tolerância em células T. Além disso, muitas estratégias terapêuticas que estão sendo desenvolvidas para induzir tolerância a transplantes e autoantígenos têm como foco a inativação ou eliminação das células T. Isso ocorre porque as reações inflamatórias patológicas são tipicamente mediadas pelas células T, em especial as células T auxiliares $CD4^+$, e essas mesmas células também controlam a produção de anticorpos potencialmente prejudiciais.

Tolerância Central da Célula T

Durante sua maturação no timo, muitas células T imaturas que reconhecem antígenos com grande avidez morrem, e algumas das células sobreviventes da linhagem CD4⁺ se desenvolvem em Tregs (Fig. 15.2). A morte de células T imaturas como resultado do reconhecimento de antígenos no timo é conhecida como **deleção**, ou **seleção negativa**; o processo já foi descrito na discussão sobre a maturação da célula T (Capítulo 8). Esse processo afeta as células T restritas ao complexo principal de histocompatibilidade (MHC, do inglês, *major histocompatibility complex*) de classe I e de classe II, sendo importante para a tolerância nas populações de linfócitos $CD8^+$ e $CD4^+$. A seleção negativa de timócitos é responsável pelo fato de o repertório de células T maduras que deixam o timo e povoam os tecidos linfoides periféricos não responder a muitos autoantígenos que estão presentes no timo. A seleção negativa ocorre em células T duplo-positivas no córtex tímico e em células T simples-positivas recém-geradas na medula. Em ambos os locais, timócitos imaturos com receptores de alta afinidade para autoantígenos que encontram esses antígenos morrem por apoptose. Os dois principais fatores que determinam se um autoantígeno particular induzirá a seleção negativa de timócitos autorreativos são a presença daquele antígeno no timo (por expressão local ou transporte pelo sangue) e a afinidade dos receptores de célula T (TCRs, do inglês, *T cell receptors*) dos timócitos que reconhecem o antígeno. Assim, as questões importantes e relevantes para a seleção negativa são: 1) Quais autoantígenos estão presentes no timo? 2) Como as células T imaturas que reconhecem esses antígenos são deletadas?

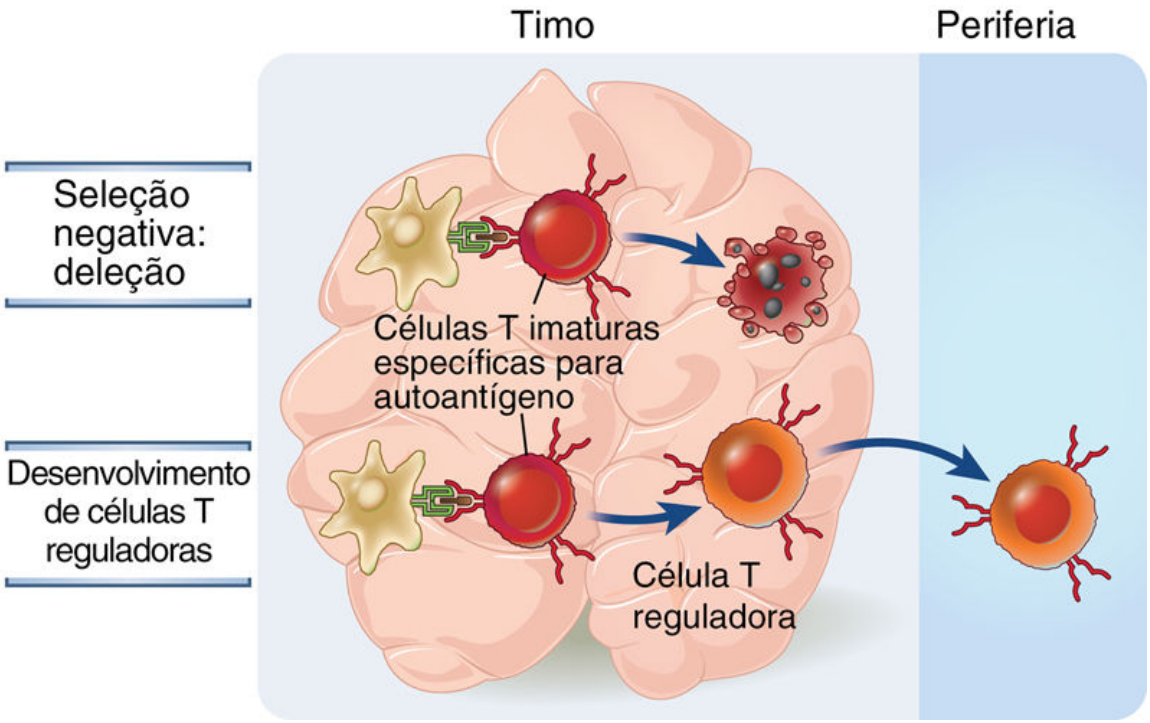


FIGURA 15.2 Tolerância central da célula T.
O reconhecimento de autoantígenos por células T imaturas no timo leva à morte dessas células (seleção negativa ou deleção) ou ao desenvolvimento de células T reguladoras (Tregs) que entram nos tecidos periféricos.

Os antígenos que estão presentes no timo incluem muitas proteínas circulantes e proteínas associadas a células que estão amplamente distribuídas nos tecidos. O timo conta ainda com um mecanismo especial de expressão de muitos antígenos proteicos que estão presentes em diferentes tecidos periféricos, de modo que as células T imaturas específicas para esses antígenos podem ser deletadas do repertório de células T em desenvolvimento. Esses antígenos de tecidos periféricos são produzidos nas células epiteliais medulares tímicas (MTECs, do inglês, *medullary thymic epithelial cells*) sob o controle da proteína **reguladora autoimune** (AIRE, do inglês, *autoimmune regulator*). Mutações no gene *AIRE* são a causa de uma doença autoimune que afeta múltiplos órgãos, chamada de **síndrome poliendócrina autoimune tipo 1** (**APS1**, do inglês, *autoimmune polyendocrine syndrome type 1*). Esse grupo de doenças caracteriza-se por lesões causadas por anticorpos e mediadas por linfócitos que atingem diversos órgãos endócrinos, incluindo as paratireoides, as adrenais e as ilhotas pancreáticas. Um modelo murino de APS1 foi desenvolvido pelo nocaute do gene *AIRE*, reproduzindo muitas características da doença humana. Estudos em camundongos mostraram

que várias proteínas produzidas em órgãos periféricos (p. ex.: a insulina pancreática) também são expressas em baixos níveis pelas MTECs, e, além disso, células T imaturas que reconhecem esses antígenos são deletadas no timo ou se desenvolvem em Tregs. Na ausência de AIRE funcional (como em pacientes com APS1 e camundongos deficientes de AIRE), esses antígenos não são exibidos no timo e as células T específicas para tais antígenos escapam da deleção, amadurecem e dirigem-se para a periferia, onde atacam os tecidos-alvo nos quais os antígenos são expressos de maneira independente de AIRE (Fig. 15.3). A proteína AIRE pode funcionar como um regulador transcricional para promover a expressão tímica de antígenos tecido-restritos selecionados. AIRE é um componente de um complexo multiproteico expresso principalmente em MTECs e está envolvido no elongamento transcricional e no desenovelamento e remodelamento da cromatina. A forma como AIRE controla a expressão de uma ampla variedade de antígenos teciduais não é conhecida ainda. De maneira interessante, pacientes com mutações em *AIRE* produzem autoanticorpos neutralizantes contra sua própria IL-17. A deficiência resultante de IL-17 torna esses pacientes suscetíveis à candidíase mucocutânea, refletindo o papel essencial das citocinas Th17 na defesa contra esta infecção fúngica (Capítulo 10).

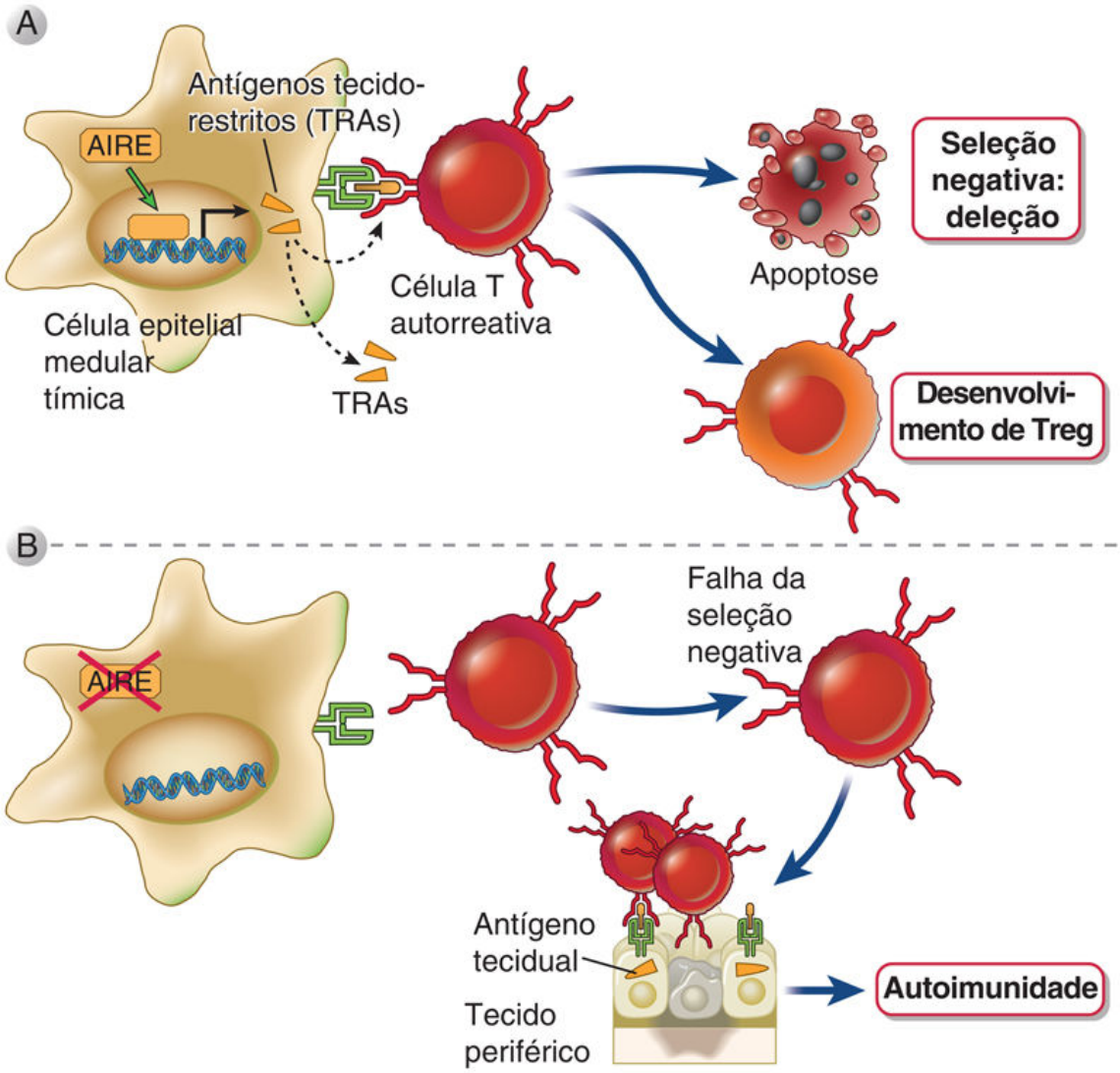


FIGURA 15.3 Função de AIRE na deleção de células T no timo. **A,** A proteína reguladora autoimune (AIRE) é parte de um complexo que regula a expressão de antígenos tecido-restritos (TRAs) nas células epiteliais da medula do timo (MTECs). Os peptídeos derivados desses antígenos são exibidos pela MTEC e reconhecidos por células T antígeno-específicas imaturas, levando à deleção de muitas células T autorreativas. **B,** Na ausência de AIRE funcional, essas células T autorreativas não são eliminadas; elas podem entrar nos tecidos onde os antígenos continuam a ser produzidos e causar danos.

A sinalização do TCR em células T imaturas dispara a via mitocondrial de apoptose. Os mecanismos de apoptose são descritos adiante neste capítulo, quando discutiremos a deleção como um mecanismo de tolerância periférica de células T. Claramente, linfócitos imaturos e maduros "interpretam" os sinais do receptor antigênico de maneira

diferente — sendo que os primeiros morrem e os últimos são ativados. A base bioquímica dessa diferença é desconhecida.

Algumas células T CD4⁺ autorreativas que encontram autoantígenos no timo não são deletadas; em vez disso, diferenciam-se em células Tregs específicas para esses antígenos (Fig. 15.2). As células reguladoras deixam o timo e inibem as respostas contra autoantígenos na periferia. Não se sabe o que determina a escolha entre a deleção e o desenvolvimento das Tregs. Possíveis fatores incluem a afinidade de reconhecimento do antígeno, os tipos de células apresentadoras de antígenos (APCs, do inglês, *antigen presenting cells*) que apresentam o antígeno e a disponibilidade de certas citocinas localmente no timo. As características e funções das Tregs serão descritas posteriormente, no contexto da tolerância periférica, porque essas células suprimem as respostas imunes na periferia.

Tolerância Periférica da Célula T

Os mecanismos de tolerância periférica são anergia (não responsividade funcional), supressão pelas Tregs e deleção (morte celular) (Fig. 15.4). Esses mecanismos podem ser responsáveis pela tolerância das células T a autoantígenos tecido-específicos, especialmente aqueles que não são abundantes no timo. Não se sabe se a tolerância a diferentes autoantígenos é mantida por um ou outro mecanismo ou se todos esses mecanismos funcionam cooperativamente para prevenir a autoimunidade. Os mesmos mecanismos podem também induzir não responsividade a antígenos estranhos que são apresentados ao sistema imune sob condições tolerogênicas.

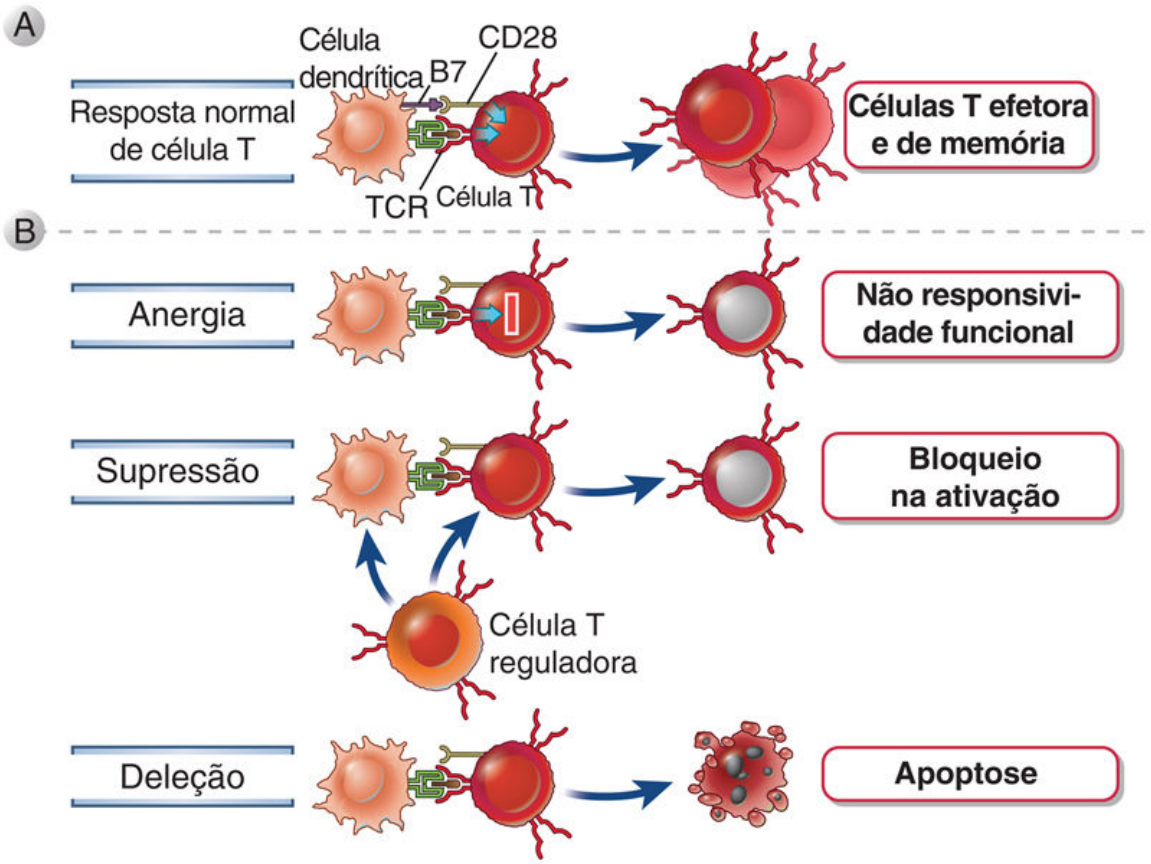


FIGURA 15.4 Mecanismos de tolerância periférica da célula T. Os sinais envolvidos em uma resposta imunológica normal **(A)** e os três principais mecanismos de tolerância periférica da célula T **(B)** estão ilustrados.

Anergia (não Responsividade Funcional)

A exposição de células T CD4⁺ maduras a um antígeno na ausência de coestimulação ou imunidade inata pode tornar as células incapazes de responder àquele antígeno. Nesse processo, chamado *anergia*, as células autorreativas não morrem, mas tornam-se não responsivas a um antígeno. O conceito de que a ativação total das células T requer o reconhecimento do antígeno pelo TCR (o qual fornece o sinal 1) e dos coestimuladores, principalmente B7-1 e B7-2 pelo CD28 (sinal 2) foi previamente introduzido (Capítulo 9). O sinal 1 prolongado (p. ex.: reconhecimento antigênico), quando sozinho, pode levar à anergia. É provável que os autoantígenos sejam exibidos continuamente às células T específicas na ausência de imunidade inata e forte coestimulação. A anergia induzida por antígeno foi demonstrada em uma grande variedade de modelos

experimentais, incluindo estudos com clones de células T expostos a antígenos *in vitro* (que serviu de base para a definição original de anergia), experimentos nos quais os antígenos foram administrados aos camundongos na ausência de adjuvantes e estudos com camundongos transgênicos, nos quais antígenos proteicos particulares foram expressos ao longo da vida e reconhecidos pelas células T na ausência de inflamação e de respostas imunes inatas que normalmente acompanham a exposição aos microrganismos. Há evidências de que a anergia é um mecanismo de tolerância a alguns autoantígenos também em seres humanos. Células anérgicas podem sobreviver por dias ou semanas em um estado quiescente e então morrem.

Diversos mecanismos podem atuar na indução e manutenção do estado anérgico (Fig. 15.5):

- ***A transdução de sinal induzida pelo TCR é bloqueada em células anérgicas***. Os mecanismos desta sinalização de bloqueio não são completamente conhecidos. Em diferentes modelos experimentais, atribui-se esse sinal à expressão diminuída de TCR (talvez em virtude do aumento da degradação; comentado posteriormente) e ao recrutamento de moléculas inibidoras, como tirosina fosfatases, para o complexo TCR.
- ***O reconhecimento de autoantígenos pode ativar as ubiquitinas ligases celulares, as quais ubiquitinam as proteínas associadas ao TCR e as direcionam para a degradação proteolítica nos proteossomos ou lisossomos***. O resultado líquido é a perda dessas moléculas de sinalização e ativação defeituosa das células T (Capítulo 7, Fig. 7.22). Uma ubiquitina ligase importante para as células T é chamada de Cbl-b. Camundongos deficientes para o gene que codifica a Cbl-b apresentam proliferação espontânea de células T e manifestações de autoimunidade, sugerindo que essa enzima está envolvida na manutenção da não responsividade das células T aos autoantígenos. Ainda não se sabe por que o reconhecimento de autoantígenos, que ocorre tipicamente sem forte coestimulação, ativa essas ubiquitina ligases, ao passo que antígenos estranhos, reconhecidos com coestimulação, as ativam muito menos ou simplesmente não as ativam.
- ***Quando as células T reconhecem autoantígenos, estes podem engajar receptores de inibição da família CD28, cuja função é finalizar as respostas das células T***. As funções dos receptores

inibidores de células T mais conhecidos encontram-se descritas na próxima seção.

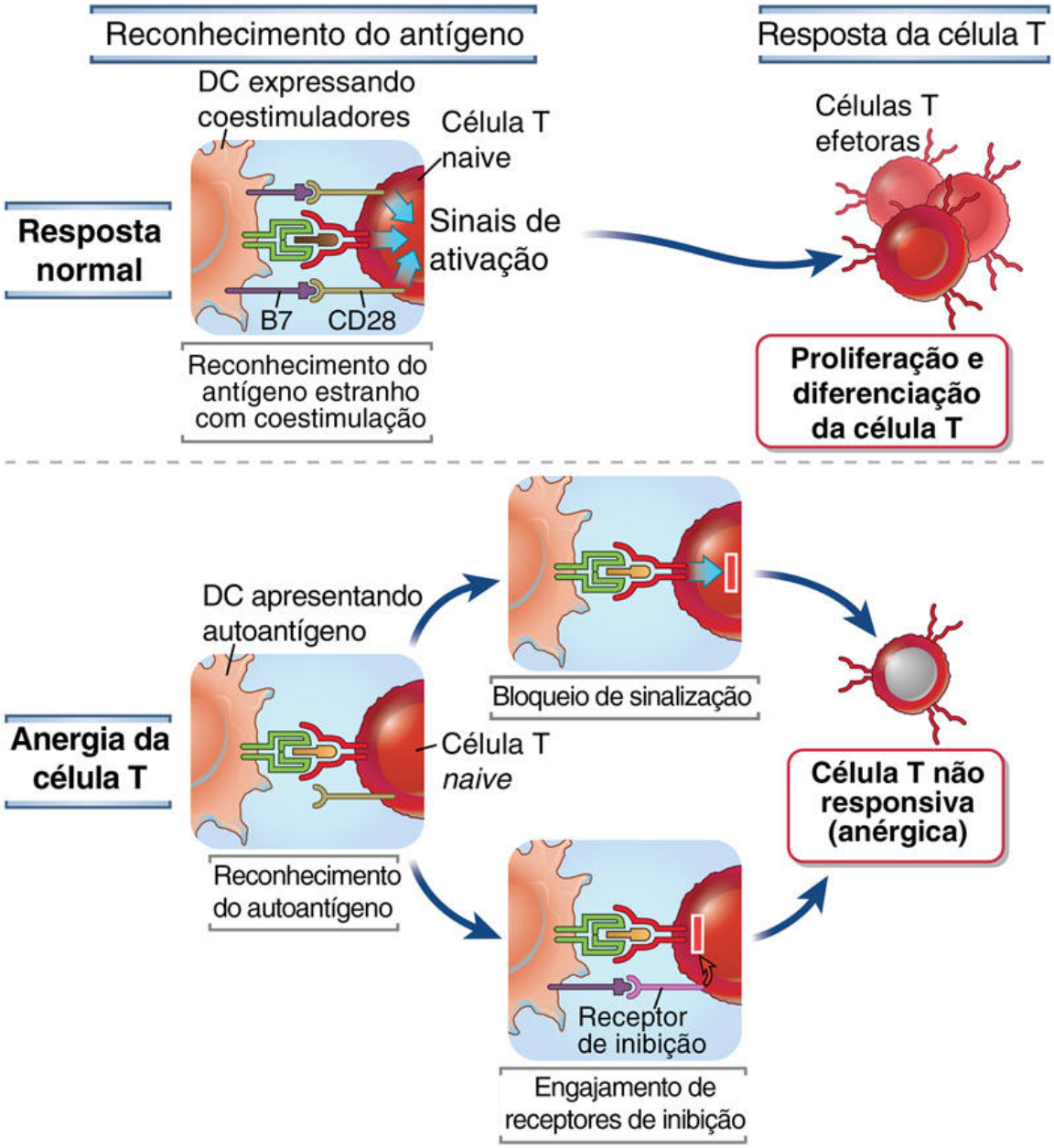


FIGURA 15.5 Mecanismos de anergia da célula T.
As respostas das células T são induzidas quando as células reconhecem um antígeno apresentado por uma célula apresentadora de antígeno (APC) profissional, e os receptores de ativação nas células T (como o CD28) reconhecem coestimuladores nas APCs (como o B7). Se a célula T reconhece um autoantígeno sem coestimulação, a célula T torna-se não responsiva ao antígeno em decorrência de um bloqueio na sinalização do complexo TCR ou do engajamento de receptores de inibição (como o CTLA-4 e o PD-1). O bloqueio da sinalização pode ser resultado do recrutamento de fosfatases para o complexo TCR ou da ativação de ubiquitina ligases que degradam proteínas de sinalização. A célula T

permanece viável, mas não é capaz de responder ao autoantígeno.
DC, Célula dendrítica.

Regulação das Respostas das Células T por Receptores Inibidores

No Capítulo 9 foi introduzido o conceito geral de que o resultado do reconhecimento antigênico pelas células T é determinado por um equilíbrio entre os sinais derivados dos receptores de ativação e de inibição. Embora muitos receptores de inibição tenham sido descritos, dois deles têm papéis fisiológicos mais bem estabelecidos na autotolerância: CTLA-4 e PD-1. Estudos sobre esses receptores inibidores ampliaram o entendimento sobre os mecanismos de tolerância e levaram a novas abordagens terapêuticas para a manipulação das respostas imunes.

CTLA-4. O antígeno-4 do linfócito T citotóxico (CTLA-4, do inglês, *cytotoxic T lymphocyte antigen-4*), assim denominado pela maneira como foi descoberto, é um membro da família de receptores CD28 (Fig. 9.5) e, assim como o receptor de ativação CD28, liga-se às moléculas B7. A importância do CTLA-4 na indução de tolerância é demonstrada pela descoberta de que camundongos deficientes para CTLA-4 e indivíduos com mutações no gene *CTLA4* desenvolvem lesões inflamatórias contendo células T e macrófagos que afetam múltiplos órgãos, sugerindo que defeitos nesse mecanismo de controle resulta em falha da tolerância periférica. O bloqueio do CTLA-4 por meio de anticorpos como parte da imunoterapia antitumoral (Capítulo 18) frequentemente resulta em doenças autoimunes e inflamatórias. Os polimorfismos do gene *CTLA4* estão associados a diversas doenças autoimunes em humanos, incluindo diabetes tipo 1 e doença de Graves. Todos esses achados indicam que o CTLA-4 atua continuamente para manter as células T autorreativas sob controle.

O CTLA-4 inibe a ativação das células T de duas maneiras diferentes (Fig. 15.6). Por meio de um mecanismo celular intrínseco, uma vez ativadas, as células T responsivas começam a expressar CTLA-4 que "desliga" a ativação adicional dessas células, finalizando assim a resposta. E por meio de uma via celular extrínseca, as Tregs expressam altos níveis de CTLA-4, utilizado para prevenir a ativação de células responsivas.

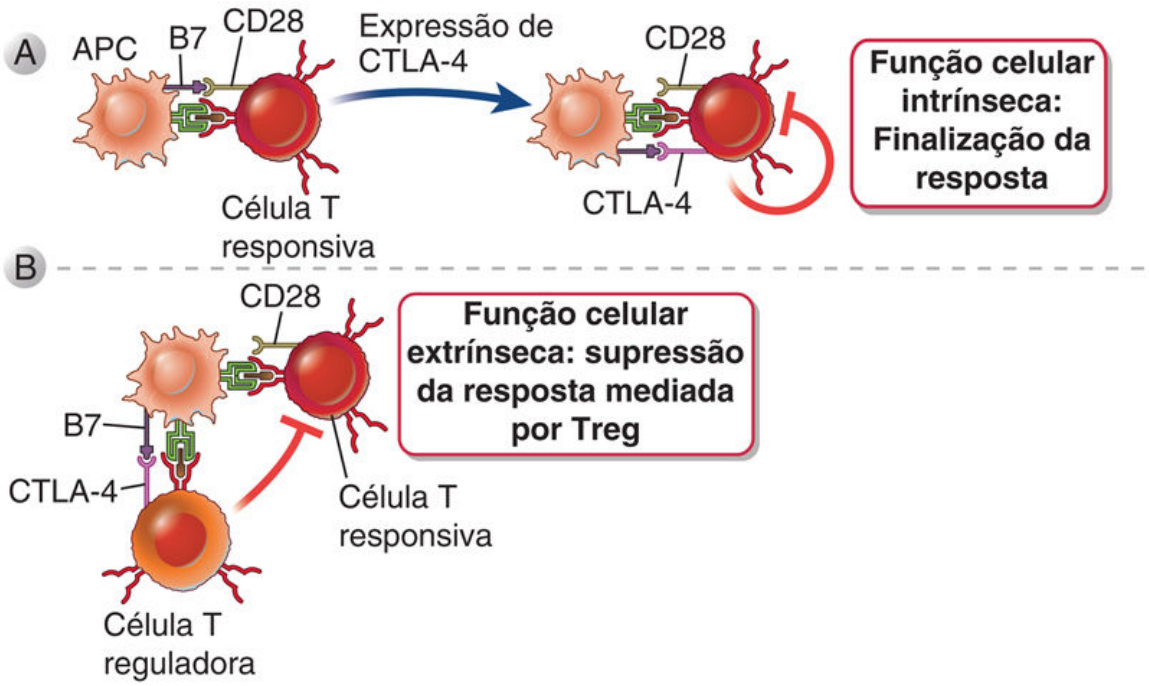


FIGURA 15.6 Mecanismos de ação do CTLA-4.
A, Após a ativação, células T responsivas expressam CTLA-4, o qual bloqueia a ativação adicional dessa célula (função celular intrínseca do CTLA-4). **B,** O CTLA-4 expresso em Tregs pode inibir a ativação de células T responsivas nas mesmas APCs (função celular extrínseca do CTLA-4). *APC*, Célula apresentadora de antígeno.

O CTLA-4 atua como um inibidor competitivo de CD28 e reduz a disponibilidade de B7 para o receptor CD28 (Fig. 15.7). Lembre-se de que CD28 e CTLA-4 reconhecem os mesmos ligantes, B7-1 (CD80) e B7-2 (CD86) (Fig. 9.5, Capítulo 9). O CTLA-4 tem uma afinidade 10 a 20 vezes maior por B7 do que CD28. A cauda citoplasmática de CTLA-4 não parece ter qualquer função significante; porém, contém um motivo que se conecta à clatrina, uma proteína envolvida na endocitose mediada por receptor. Por essa razão, CTLA-4 é um receptor endocítico que se liga a moléculas B7 nas APCs e que remove e internaliza essas moléculas. Portanto, quando é expresso em células T responsivas ou Tregs, o CTLA-4 compete com o CD28 e reduz a quantidade de B7 disponível nas APCs para fornecer coestimulação via CD28. Essa inibição competitiva é especialmente importante quando os níveis de B7 nas APCs são baixos (como o são em APCs em repouso exibindo autoantígenos). Quando os níveis de B7 aumentam, por exemplo, após a exposição a microrganismos, ocorre uma interação relativamente maior do receptor de baixa afinidade CD28. Tal mecanismo explica tanto o mecanismo celular intrínseco quando o

extrínseco de inibição das respostas de células T mediado por CTLA-4. Como o CTLA-4 limita ativação inicial de células T dependente de coestimulação nos órgãos linfoides secundários, a mutação ou bloqueio desse receptor leva a respostas imunes severamente desreguladas com linfonodos aumentados, linfoproliferação e inflamação múltipla de órgãos.

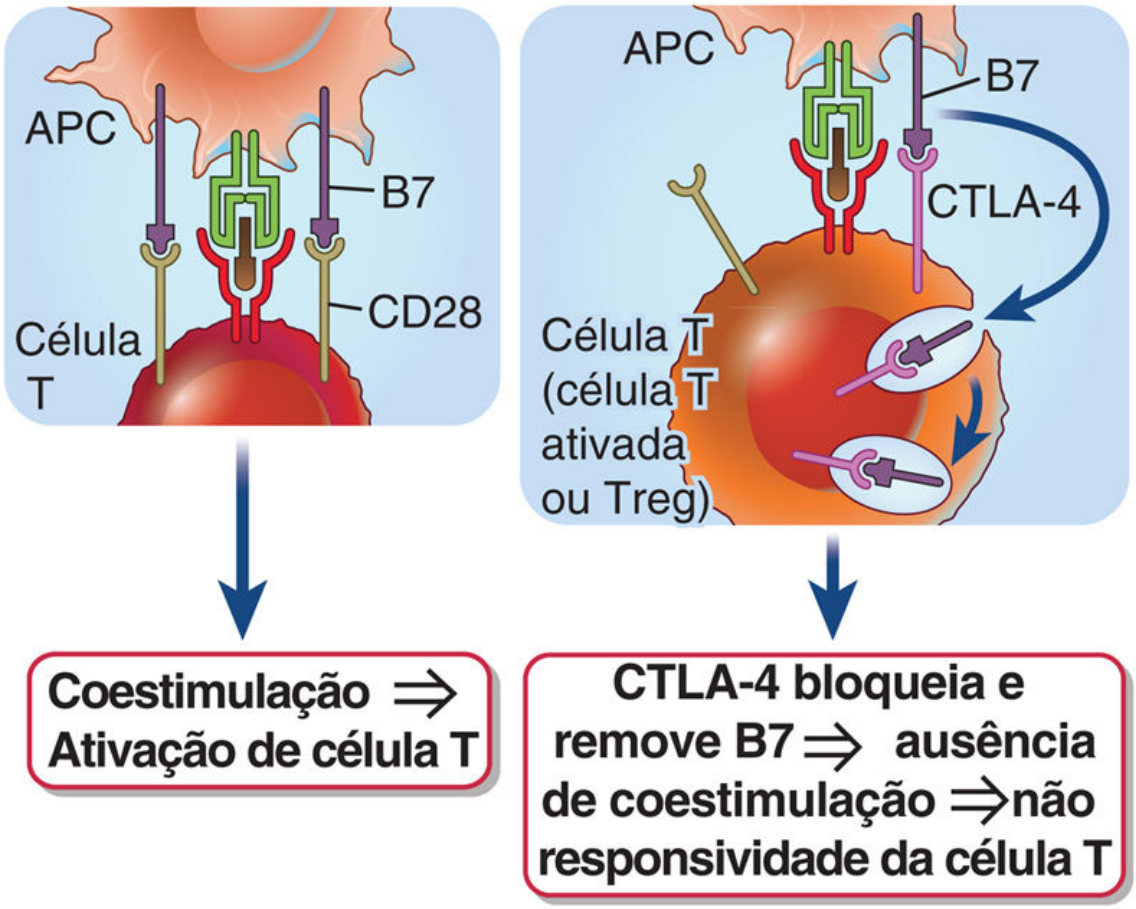


FIGURA 15.7 Mecanismos de ação do CTLA-4.
O CTLA-4 expresso em células T responsivas ou reguladoras se liga a moléculas B7 nas APCs ou remove essas moléculas da superfície das APCs, tornando os coestimuladores B7 indisponíveis para CD28 e bloqueando a ativação da célula T. Essa atividade de CTLA-4 é capaz de suprimir as respostas imunes de maneira mais eficiente quando os níveis de B7 são baixos, capacitando o CTLA-4 a superar a competição com o CD28, um receptor de B7 de menor afinidade.

A percepção de que o CTLA-4 define blocos ou pontos de controle nas respostas imunológicas levou à ideia de que a ativação do linfócito pode ser promovida ao reduzir-se a inibição, um processo conhecido como

bloqueio dos pontos de controle. O bloqueio de CTLA-4 com anticorpos resulta em respostas imunológicas aumentadas aos tumores (Capítulo 18). O anticorpo anti-CTLA-4 está aprovado atualmente para o tratamento de melanomas avançados e outros tipos de câncer. De forma previsível, alguns dos pacientes tratados desenvolvem manifestações de autoimunidade com inflamação em vários órgãos.

PD-1. Outro receptor de inibição da família CD28 é chamado morte celular programada-1 (PD-1, do inglês, *programmed cell death 1*) e tem esse nome porque originalmente acreditava-se que estaria envolvido na morte celular programada, mas agora se sabe que o mesmo não tem papel na apoptose da célula T. O PD-1 reconhece dois ligantes, conhecidos como PD-L1 e PD-L2; o PD-L1 é expresso nas APCs e em muitas outras células teciduais, enquanto o PD-L2 é expresso principalmente nas APCs. O receptor PD-1 é expresso em células T ativadas pelo antígeno. O acoplamento de PD-1 com qualquer um dos seus ligantes leva ao recrutamento de fosfatases para a cauda citoplasmática de PD-1. Essas enzimas neutralizam a sinalização induzida por quinases e inibem os sinais provenientes do complexo TCR-correceptor, e do CD28 e outros receptores coestimuladores, resultando na inativação das células T. Camundongos deficientes de PD-1 desenvolvem doenças autoimunes que são tipicamente brandas e menos graves do que os camundongos deficientes de CTLA-4. A expressão de PD-1 em células T aumenta com a estimulação crônica pelo antígeno, sendo especialmente importante para controlar as respostas decorrentes de exposição antigênica prolongada, como ocorre com autoantígenos, tumores e infecções crônicas. O bloqueio dos pontos de controle com anticorpos anti-PD-1 e anti-PD-L1 vem mostrando ainda mais eficiência e menor toxicidade do que o anti-CTLA-4 em diversos tipos de câncer (Capítulo 18).

Embora o CTLA-4 e o PD-1 estabeleçam pontos de controle nas respostas imunes, suas funções devem ser complementares e não idênticas. Por exemplo, o PD-1 parece ser mais importante para finalizar as respostas das células $CD8^+$ nos tecidos periféricos, enquanto o CTLA-4 limita a ativação inicial de células T em órgãos linfoides secundários, como discutido previamente. Algumas das suas principais diferenças estão resumidas na Tabela 15.1.

Tabela 15.1

Ações e Funções do CTLA-4 e do PD-1

	CTLA-4	PD-1
Principal sítio de ação	Órgãos linfoides secundários	Tecidos periféricos
Etapa da resposta imune que é inibida	Indução (*priming*)	Fase efetora
Tipo celular inibido	$CD4^+$ e $CD8^+$	$CD8^+ > CD4^+$
Expressão celular	Tregs, células T ativadas	Células T ativadas
Principais sinais inibidos	Inibidor competitivo da coestimulação por CD28 (ligando ao B7 com alta afinidade e removendo B7 de APCs)	Inibe sinais quinase-dependentes de CD28 e TCR (recrutando e ativando fosfatases após ligação aos seus ligantes PDL-1 ou PDL-2)
Papel na supressão mediada por Treg nas respostas imunes	Sim	Provavelmente não

APCs, Células apresentadoras de antígenos; *TCR*, receptor de célula T; *Tregs*, células T reguladoras.

Muitos outros receptores de inibição foram identificados, incluindo alguns pertencentes à família de receptores do TNF (do inglês, *tumor necrosis fator*) e outros que pertencem à família das imunoglobulinas e mucinas das células T (TIM, do inglês, *T cell immunoglobulin and mucin*). Há grande interesse em definir o papel desses receptores na autotolerância e na regulação das respostas imunes, e o potencial de tornar essas moléculas em alvos terapêuticos.

Supressão pelas Tregs

O conceito de que alguns linfócitos poderiam controlar as respostas de outros linfócitos foi proposto muitos anos atrás e logo seguido por demonstrações experimentais de populações de linfócitos T que suprimiam as respostas imunológicas. Esses resultados iniciais levaram a um grande interesse pelas *células T supressoras*, que se tornaram um dos

tópicos dominantes da pesquisa em Imunologia na década de 1970. Entretanto, esse campo de estudo teve uma história um tanto complicada, principalmente porque as tentativas iniciais de definir as populações de células supressoras e seus mecanismos de ação foram amplamente malsucedidas. Mais de 20 anos depois, a ideia renasceu de uma forma impressionante, com a aplicação de melhores abordagens para definir, purificar e analisar as populações de linfócitos T que inibem as respostas imunológicas. Esses linfócitos são denominados *células T reguladoras (Tregs)*.

As Tregs constituem uma subpopulação de células T CD4$^+$ cuja função é suprimir as respostas imunes e manter a autotolerância (Fig. 15.8). A maioria dessas Tregs CD4$^+$ expressa altos níveis da cadeia α do receptor de interleucina-2 (IL-2), denominada CD25, e do fator de transcrição chamado FoxP3. O FoxP3 é um membro da família de fatores de transcrição *forkhead* críticos para o desenvolvimento e função da maioria das Tregs. Camundongos com mutações espontâneas ou induzidas experimentalmente no gene *FOXP3* desenvolvem uma doença autoimune multissistêmica associada à ausência de Tregs CD25$^+$. Uma doença autoimune rara em humanos, chamada síndrome de **IPEX** (imunodesregulação, poliendocrinopatia e enteropatia ligadas ao X), é causada por mutações no gene *FOXP3* e está associada à deficiência de Tregs. Essas observações estabeleceram a importância das Tregs na manutenção da autotolerância. O aumento recente do interesse nas Tregs ocorre em virtude da avaliação crescente de seus papéis fisiológicos, bem como da possibilidade de que defeitos nessas células possam resultar em várias doenças autoimunes e, por outro lado, de que as Tregs possam ser administradas ou expandidas para tratar doenças inflamatórias.

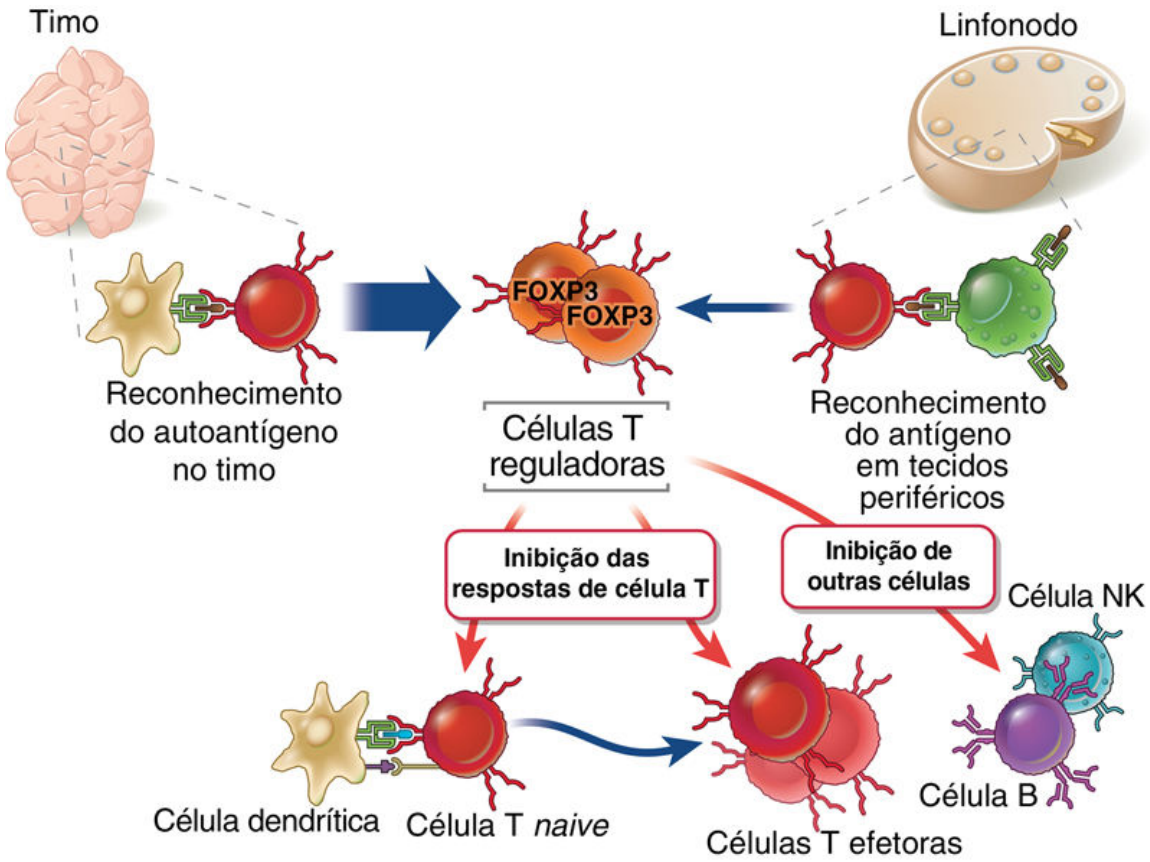


FIGURA 15.8 Células T reguladoras.
As células T reguladoras (Tregs) são geradas com base no reconhecimento de autoantígenos no timo (às vezes chamadas de células reguladoras naturais) e (talvez em menor extensão) pelo reconhecimento de antígenos nos órgãos linfoides periféricos (chamadas de células reguladoras induzíveis ou adaptativas). O desenvolvimento e a sobrevivência dessas Tregs requerem IL-2 e o fator de transcrição FoxP3. Nos tecidos periféricos, as Tregs suprimem a ativação e as funções efetoras de outros linfócitos autorreativos e potencialmente patogênicos.

Marcadores Fenotípicos e Heterogeneidade das Tregs

Embora numerosas populações de células T tenham sido descritas como tendo atividade supressora, o tipo celular cujo papel regulador está mais bem estabelecido é a população $CD4^+$ $FoxP3^+$ $CD25^{high}$. FoxP3 e CD25 são essenciais para a geração, manutenção e função dessas células. Tipicamente, essas células expressam baixos níveis do receptor de IL-7 (CD127) e, conforme previsto a partir desse padrão de expressão do receptor, utilizam IL-2, mas não IL-7, como seu fator de crescimento e sobrevivência. As Tregs $FoxP3^+$ normalmente expressam altos níveis de

CTLA-4, que também é necessário para sua função. A desmetilação do *locus* do gene *FOXP3*, bem como de outros *loci* contendo genes que são expressos nessas células, serve para manter um fenótipo estável da Treg. Essas alterações epigenéticas são atualmente utilizadas para identificar as Tregs em pesquisa básica e pesquisa clínica.

Geração e Manutenção das Tregs

As Tregs são geradas principalmente pelo reconhecimento de autoantígenos no timo e pelo reconhecimento de autoantígenos e antígenos estranhos em órgãos linfoides periféricos. No timo, o desenvolvimento das Tregs é um dos destinos das células T comprometidas com a linhagem CD4 que reconhecem autoantígenos; essas Tregs tímicas (tTregs) também são chamadas de Tregs naturais. Nos órgãos linfoides periféricos, o reconhecimento do antígeno na ausência de fortes respostas imune inatas favorece a geração de células reguladoras a partir de linfócitos T $CD4^+$ *naive*; as Tregs também podem se desenvolver depois de reações inflamatórias. Essas Tregs periféricas (pTregs) são chamadas adaptativas ou induzidas, porque podem ser induzidas a se desenvolverem a partir de células T $CD4^+$ *naive* nos tecidos linfoides periféricos como uma adaptação do sistema imune em resposta a certos tipos de exposição antigênica. Previsivelmente, as células reguladoras tímicas são específicas para autoantígenos porque estes são os principais antígenos no timo. As células reguladoras periféricas podem ser específicas para autoantígenos ou antígenos estranhos. Embora muitos marcadores tenham sido propostos para distinguir as Tregs tímicas das Tregs periféricas, não está estabelecido se esses marcadores são sempre exclusivos de uma subpopulação ou similares em camundongos e humanos.

***A geração de algumas Tregs necessita da citocina fator de transformação do crescimento-β (TGF-β, do inglês*, transforming growth fator-β)**. A cultura de células T *naive* com anticorpos anti-TCR ativadores, juntamente com o TGF-β (e a IL-2, conforme discutido a seguir), pode induzir o desenvolvimento de células reguladoras *in vitro*. Em camundongos, a eliminação do TGF-β ou o bloqueio dos sinais do TGF- β em células T levam a uma doença inflamatória sistêmica atribuída à deficiência de Tregs funcionais e ativação leucocitária descontrolada. O TGF-β estimula a expressão de FoxP3, o fator de transcrição necessário para o desenvolvimento e função das Tregs.

A sobrevivência e a competência funcional das Tregs são dependentes da citocina IL-2. Camundongos deficientes para o gene da IL-2 ou para a

cadeia α ou β do receptor de IL-2 desenvolvem autoimunidade, manifestada por enteropatia inflamatória, anemia hemolítica autoimune e múltiplos autoanticorpos (incluindo anticorpos antieritrócitos e anti-DNA). Esses camundongos perdem um conjunto inteiro de Tregs $CD25^+$ $FoxP3^+$ e sua doença pode ser corrigida por meio da restauração dessas células. A IL-2 promove a diferenciação de células T em uma subpopulação reguladora, sendo também necessária para a manutenção dessa população celular. Como as Tregs $FoxP3^+$ não produzem IL-2, esse fator de crescimento é fornecido pelas células T convencionais respondendo a antígenos próprios ou estranhos (Fig. 15.9). A IL-2 ativa o fator de transcrição STAT5, que pode aumentar a expressão de FoxP3, assim como outros genes envolvidos na função das Tregs. Esses resultados são a base para os ensaios clínicos em andamento, testando a capacidade da IL-2 de promover Tregs em humanos para o controle da doença do enxerto *versus* hospedeiro, da inflamação autoimune e da rejeição aos enxertos.

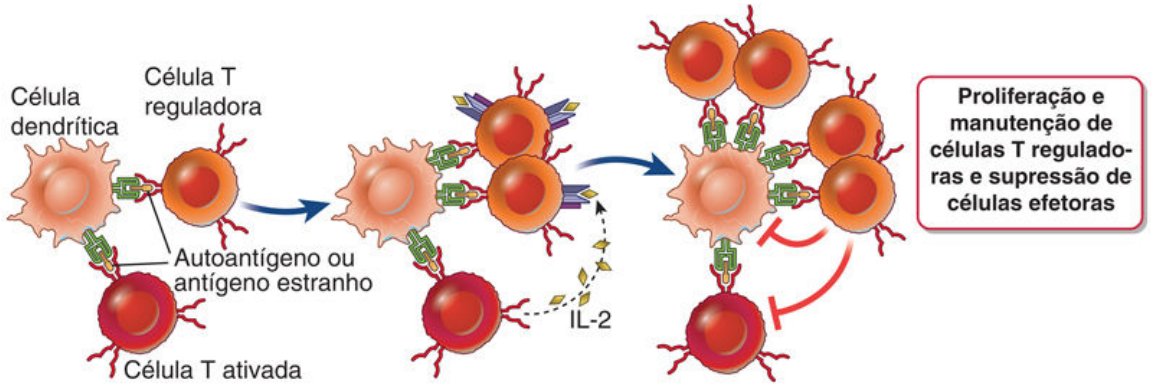


FIGURA 15.9 Papel da interleucina-2 na manutenção das células T reguladoras.
A IL-2 produzida por células T convencionais, responsivas a autoantígenos ou antígenos estranhos, atua em Tregs que reconheceram o antígeno apresentado pelas APCs e promove a sobrevivência e função das Tregs, tornando-as capazes de controlar as respostas das células T convencionais. *IL-2,* Interleucina-2.

Populações particulares ou subpopulações de células dendríticas podem ser especialmente importantes para estimular o desenvolvimento de Tregs em tecidos periféricos. Há evidências de que as células dendríticas expostas ao ácido retinoico, o análogo da vitamina A, são indutoras de

Tregs, especialmente em tecidos linfoides associados às mucosas (Capítulo 14).

Mecanismos de Ação das Tregs

As Tregs parecem suprimir as respostas imunológicas em múltiplos estágios — na indução da ativação das células T nos órgãos linfoides, assim como na fase efetora dessas respostas nos tecidos. Elas também podem suprimir diretamente a ativação das células B e inibir a proliferação e diferenciação de células *natural killer* (NK). Embora diversos mecanismos de supressão tenham sido propostos, aqueles que apresentam maior suporte de acordo com os dados disponíveis são os seguintes:

- ***Produção das citocinas imunossupressoras IL-10 e TGF-β.*** A biologia dessas citocinas é descrita em mais detalhes adiante.
- ***Capacidade reduzida das APCs em estimularem as células T***. O mecanismo proposto para essa atividade é a ligação do CTLA-4 (nas células reguladoras) às moléculas B7 (nas APCs), resultando em inibição competitiva da coestimulação mediada por CD28 (Fig. 15.6).
- ***Consumo de IL-2***. Em virtude do alto nível de expressão do receptor de IL-2, essas células podem consumir IL-2, privando outras populações celulares desse fator de crescimento, o que resulta na redução da proliferação e diferenciação de outras células dependentes de IL-2.

Ainda não está estabelecido se todas as células reguladoras atuam por meio de todos esses mecanismos ou se há subpopulações que utilizam mecanismos diferentes para controlar as respostas imunes. De fato, existem evidências em humanos de que duas populações diferentes de Tregs podem ser distinguidas pela expressão de FoxP3 ou produção de IL-10, mas essa separação pode não ser absoluta.

Citocinas Inibidoras Produzidas por Tregs

O TGF-β e a IL-10 estão envolvidos na geração e nas funções das Tregs. Essas citocinas são produzidas e agem em muitos outros tipos celulares além das células reguladoras. Aqui, decrevemos as propriedades e ações dessas citocinas.

Fator de Transformação do Crescimento-β. O TGF-β foi descoberto como um produto derivado de tumores capaz de promover a sobrevivência das células tumorais *in vitro*. Na verdade, o TGF-β constitui

uma família de moléculas proximamente relacionadas, codificadas por genes distintos, comumente designadas TGF-β1, TGF-β2 e TGF-β3. As células do sistema imunológico sintetizam principalmente o TGF-β1, sendo produzido por Tregs $CD4^+$, macrófagos ativados e muitos outros tipos celulares. O TGF-β1 é sintetizado como um precursor inativo que é clivado proteoliticamente no complexo de Golgi, formando um homodímero. O TGF-β1 maduro é secretado em uma forma latente associada a outros polipeptídeos, que devem ser removidos extracelularmente por meio de digestão enzimática antes que a citocina possa se ligar aos receptores e exercer seus efeitos biológicos. O receptor de TGF-β1 consiste em duas proteínas diferentes, TGF-βRI e TGF-βRII, e ambas fosforilam fatores de transcrição chamados SMADs. Após a ligação da citocina, um domínio serina/treonina quinase do TGF-βRI fosforila o SMAD2 e o SMAD3 que, complexados ao SMAD4, são translocados para o núcleo, ligam-se aos promotores de genes-alvo e regulam sua transcrição.

O TGF-β tem muitos papéis importantes e bastante diversos no sistema imunológico:

- ***O TGF-β inibe a proliferação e as funções efetoras das células T e a ativação dos macrófagos***. O TGF-β inibe a ativação clássica dos macrófagos, mas é uma das citocinas secretadas por macrófagos alternativamente ativados (Capítulo 10). O TGF-β também suprime a ativação de outras células como os neutrófilos e as células endoteliais. Por meio dessas ações inibitórias, o TGF-β atua no controle das respostas imune e inflamatória.
- ***O TGF-β regula a diferenciação de subpopulações funcionalmente distintas de Tregs***. Conforme descrito anteriormente, o TGF-β estimula o desenvolvimento de Tregas $FoxP3^+$ periféricas. Em combinação com citocinas produzidas durante as respostas imunes inatas, como IL-1 e IL-6, o TGF-β promove o desenvolvimento da subpopulação Th17 de células T $CD4^+$, em virtude de sua habilidade de induzir o fator de transcrição RORγt (Capítulo 10). A habilidade do TGF-β de suprimir as respostas imunes e inflamatórias, em parte pela geração de Tregs, e também de promover o desenvolvimento de células próinflamatórias Th17 na presença de outras citocinas, é um exemplo interessante de como uma única citocina pode ter diversas ações, algumas vezes opostas, dependendo do contexto no qual é produzida. O TGF-β também pode inibir o desenvolvimento de subpopulações Th1 e Th2.

- ***O TGF-β estimula a produção de imunoglobulina A (IgA) pela indução da troca para esse isotipo nas células B.*** A IgA é o principal isotipo de anticorpo necessário para a imunidade de mucosa (Capítulo 14).
- ***O TGF-β promove o reparo tecidual após o término das reações imune e inflamatória locais***. Essa função é mediada, principalmente, pela capacidade do TGF-β de estimular a síntese de colágeno e a produção de enzimas modificadoras da matriz por macrófagos e fibroblastos, e pela promoção da angiogênese. Essa citocina pode desempenhar um papel patológico em doenças nas quais a fibrose é um componente importante, como a fibrose pulmonar e a esclerose sistêmica.

Interleucina-10

A IL-10 é um inibidor de macrófagos e células dendríticas ativados, estando envolvida no controle das reações imunes inatas e da imunidade mediada por células. É um membro da família de citocinas heterodiméricas que incluem IL-22, IL-27 e outras. O receptor de IL-10 pertence à família de receptores de citocina do tipo II (semelhantes aos receptores para interferons) e consiste em duas cadeias que se associam às quinases da família Janus, JAK1 e TYK2, e ativam a STAT3. A IL-10 é produzida por muitas populações de células imunes, incluindo macrófagos e células dendríticas ativados, Tregs e células Th1 e Th2. Como é produzida por macrófagos e células dendríticas e também inibe essas células, a IL-10 atua como um regulador de *feedback* negativo. A IL-10 também é produzida por alguns linfócitos B, os quais apresentaram funções de supressão imunológica, sendo chamados de células B reguladoras.

Os efeitos biológicos da IL-10 resultam da sua capacidade de inibir muitas funções dos macrófagos ativados e células dendríticas.

- ***A IL-10 inibe a produção de IL-12 por células dendríticas e macrófagos ativados***. Como a IL-12 é um estímulo crítico para a secreção de interferon-γ (IFN-γ), o qual desempenha um papel importante nas reações imunológicas imunes inatas e adaptativas mediadas por células contra microrganismos intracelulares, a IL-10 suprime todas essas reações. De fato, a IL-10 foi identificada inicialmente como uma citocina capaz de inibir a produção de IFN-γ.

- ***A IL-10 inibe a expressão de coestimuladores e de moléculas de MHC classe II em células dendríticas e macrófagos***. Em decorrência dessas atividades, a IL-10 inibe a ativação de células T e limita as reações imunes mediadas por células.

Bebês com menos de 1 ano que apresentam mutações em homozigose com perda de função no gene *IL10* ou no gene do receptor da IL-10 são suscetíveis à enteropatia inflamatória. Camundongos deficientes para IL-10 em todas as células ou somente nas Tregs também desenvolvem colite, provavelmente como resultado da ativação descontrolada dos linfócitos e macrófagos reagindo aos microrganismos entéricos. Em consequência desses achados, acredita-se que a IL-10 seja especialmente importante para o controle de reações inflamatórias em tecidos de mucosa, particularmente no trato gastrintestinal (Capítulo 14).

O vírus Epstein-Barr contém um gene homólogo à IL-10 humana e essa IL-10 viral tem as mesmas atividades que a citocina natural. Isso levanta a intrigante possibilidade de que a aquisição do gene semelhante à IL-10 durante a evolução do vírus lhe conferiu a capacidade de inibir a imunidade do hospedeiro, concedendo uma vantagem de sobrevivência no hospedeiro infectado.

Papéis das Tregs na Autotolerância e na Autoimunidade

A elucidação das bases genéticas da síndrome IPEX e do modelo da doença em camundongos causadas por mutações no gene *FOXP3* (descritas anteriormente) é uma prova convincente da importância das Tregs na manutenção da autotolerância e homeostasia no sistema imunológico. Diversas tentativas vêm sendo feitas para identificar defeitos no desenvolvimento ou função das Tregs nas doenças autoimunes e inflamatórias mais comuns em humanos, tais como a enteropatia inflamatória, diabetes tipo 1 e esclerose múltipla, bem como nas doenças alérgicas. Defeitos nas Tregs ou resistência das células efetoras à supressão pelas Tregs podem contribuir para a patogênese dessas doenças. Também há potencial no processo de expansão de Tregs em cultura e sua posterior reinoculação nos pacientes, a fim de controlar respostas imunes patológicas. Existem ensaios clínicos de transferência de Tregs em andamento na tentativa de tratar a rejeição ao transplante, doença do enxerto *versus* hospedeiro e outras doenças autoimunes e inflamatórias. Outras tentativas também estão em andamento para expandir essas células em pacientes por meio da administração da citocina IL-2 em doses ou

formulações que preferencialmente se liguem ao CD25 e assim ativem Tregs.

Além do seu papel no controle da autoimunidade, as Tregs apresentam muitas outras funções. Subpopulações de Tregs com assinaturas transcricionais únicas estão presentes em muitos tecidos e parecem desempenhar funções que são especialmente benéficas para aqueles tecidos. As Tregs da pele, músculo e órgãos como pulmão promovem reparo tecidual e a proliferação e diferenciação de células-tronco, ajudando assim a restaurar a integridade do tecido após o término das reações inflamatórias. As Tregs do tecido adiposo controlam o metabolismo lipídico. As Tregs são também essenciais para a manutenção da tolerância fetal e prevenção da rejeição ao feto (Capítulo 14), e desempenham um papel na prevenção da eliminação de microrganismos comensais. É possível que o papel dessas células nos diferentes tecidos esteja relacionado ao reconhecimento de antígenos expressos nesses locais.

Deleção das Células T Via Morte Celular por Apoptose

Os linfócitos T que reconhecem autoantígenos com alta afinidade ou que são repetidamente estimulados por antígenos podem morrer por apoptose. Há duas vias principais de apoptose (Fig. 15.10), e ambas estão envolvidas na deleção periférica das células T maduras.

- A **via mitocondrial** (ou **intrínseca**) é regulada pela família de proteínas Bcl-2, que receberam esse nome em decorrência da descoberta de seu primeiro membro, Bcl-2, como um oncogene de um linfoma de célula B capaz de inibir a apoptose. Alguns membros dessa família são pró-apoptóticos e outros são antiapoptóticos. Essa via inicia-se quando as proteínas citoplasmáticas da família Bcl-2, as quais pertencem à subfamília BH3-*only* (assim chamadas porque contêm um domínio homólogo ao terceiro domínio conservado de Bcl-2), são induzidas ou ativadas como resultado da privação de fatores de crescimento, estímulos nocivos, dano ao DNA, ou certos tipos de sinalização mediada por receptor (como os sinais fortes disparados por autoantígenos em linfócitos imaturos). As proteínas BH3-*only* são sensores de estresse celular que se ligam e influenciam efetores e reguladores do processo de morte celular. Em linfócitos, o mais importante desses sensores é uma proteína chamada Bim. A Bim

ativada liga-se a duas proteínas efetoras pró-apoptóticas da família Bcl-2, chamadas Bax e Bak, que se oligomerizam e se inserem na membrana externa da mitocôndria, levando a um aumento da permeabilidade mitocondrial. Fatores de crescimento e outros sinais de sobrevivência induzem a expressão de membros antiapoptóticos da família Bcl-2, como a Bcl-2 e a Bcl-X_L, que funcionam como inibidores da apoptose, bloqueando Bax e Bak e mantendo assim a mitocôndria intacta. As proteínas BH3-*only* também antagonizam Bcl-2 e a Bcl-X_L. Quando as células são privadas dos sinais de sobrevivência, a mitocôndria passa a extravasar seu conteúdo em decorrência das ações das proteínas sensoras BH3-*only* e das proteínas efetoras Bax e Bak, além da relativa deficiência de proteínas antiapoptóticas como a Bcl-2 e a Bcl-X_L. Como resultado, muitos componentes mitocondriais, incluindo o citocromo *c*, extravazam para o citosol da célula e ativam enzimas citosólicas chamadas **caspases**. O citocromo *c* se liga à proteína citosólica chamada APAF-1, que então se oligomeriza e ativa a pró-caspase-9, liberando a caspase-9 ativa. A caspase-9, por sua vez, cliva e consequentemente ativa caspases *downstream* que induzem a fragmentação do DNA e a outras alterações que culminam na morte apoptótica.

- Na **via do receptor de morte** (ou **extrínseca**), os receptores de superfície celular homólogos aos receptores de TNF são ativados por seus ligantes, que são homólogos à citocina TNF. Os receptores oligomerizam-se e ativam proteínas adaptadoras citoplasmáticas que se encaixam na pró-caspase-8, a qual sofre autoclivagem quando oligomerizada, produzindo a caspase-8 ativa. Essa caspase-8 ativa cliva outras caspases *downstream*, resultando novamente em apoptose. Nas células T, o receptor de morte mais importante é o Fas (CD95), sendo seu ligante denominado ligante de Fas ou Fas-ligante (FasL). O Fas é um membro da família de receptores do TNF, e o FasL é homólogo ao TNF. Em muitos tipos celulares, a caspase-8 cliva e ativa uma proteína BH3-*only* chamada Bid, que se liga a Bax e Bak, induzindo apoptose pela via mitocondrial. Portanto, a via mitocondrial pode servir para amplificar a sinalização do receptor de morte.

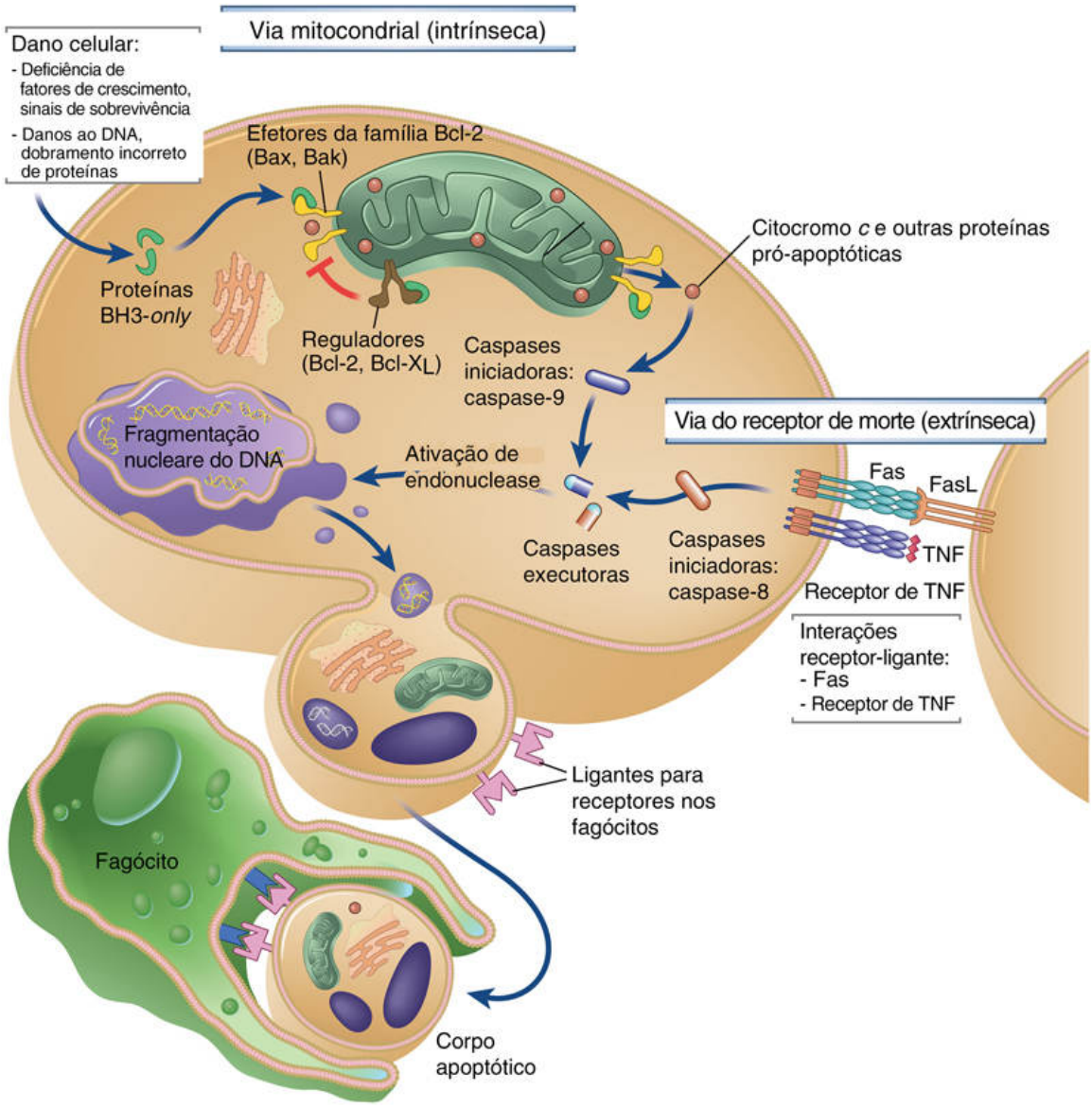


FIGURA 15.10 Vias de indução de apoptose.
A apoptose é induzida pelas vias mitocondrial e do receptor de morte, descritas no texto, que culminam na fragmentação da célula morta e fagocitose dos corpos apoptóticos.

As células que estão em apoptose desenvolvem *blebs* na membrana (alterações semelhantes a um "borbulhamento") e fragmentos do núcleo e do citoplasma são segregados em estruturas ligadas à membrana, chamadas corpos apoptóticos. Também há alterações bioquímicas na membrana plasmática, incluindo a exposição de lipídeos como fosfatidilserina, que normalmente encontra-se na face interna da membrana plasmática. Essas alterações são reconhecidas por receptores nos fagócitos, e os corpos apoptóticos e as células são rapidamente

englobados e eliminados sem elicitar nenhuma resposta inflamatória. Adicionalmente, a fagocitose de células apoptóticas pode induzir a produção de mediadores anti-inflamatórios pelos macrófagos.

A melhor evidência para o envolvimento das duas vias apoptóticas na eliminação de linfócitos maduros autorreativos é o fato de que a remoção genética dessas vias em camundongos resulta em autoimunidade sistêmica. Essas duas vias de morte podem funcionar de diferentes maneiras para manter a autotolerância.

- ***Células T que reconhecem autoantígenos na ausência de coestimulação podem ativar Bim, resultando em apoptose pela via mitocondrial***. Nas respostas imunes normais, os linfócitos responsivos recebem sinais do TCR, dos coestimuladores e dos fatores de crescimento. Esses sinais estimulam a expressão de proteínas antiapoptóticas da família Bcl-2 (Bcl-2, Bcl-X_L) e, assim, previnem a apoptose e promovem a sobrevivência celular, o prelúdio necessário para a proliferação. Quando as células T reconhecem autoantígenos com alta avidez, podem ativar Bim diretamente, desencadeando sua morte pela via mitocondrial, conforme já descrito. Ao mesmo tempo, devido à relativa falta de coestimulação e de fatores de crescimento, os membros antiapoptóticos da família Bcl-2, já mencionados, são expressos em baixos níveis, e as ações de Bim, Bax e Bak não são neutralizadas.

A via mitocondrial de apoptose Bim-dependente também está envolvida na seleção negativa de células T autorreativas no timo (previamente descrita) e na fase de contração (declínio) das respostas imunes, depois que o antígeno iniciador tiver sido eliminado (Capítulo 9).

- ***A estimulação repetida das células T resulta na coexpressão do receptor de morte Fas e seu ligante, Fas-L, e a ativação de Fas desencadeia a morte apoptótica***. Quando as células T são repetidamente ativadas, o FasL é expresso na superfície celular, ligando-se ao Fas de superfície na mesma célula ou em outras células T adjacentes. Isso ativa uma cascata de caspases, que, por fim, causa a morte apoptótica das células. A mesma via de apoptose pode estar envolvida na eliminação de linfócitos B autorreativos também na periferia (discutido adiante).

Fatores que Determinam a Tolerogenicidade de Autoantígenos

Estudos com uma variedade de modelos experimentais mostraram que muitas características dos antígenos proteicos determinam se tais antígenos induzirão a ativação da célula T ou sua tolerância (Tabela 15.2). Os autoantígenos apresentam diversas propriedades que os tornam tolerogênicos. Esses antígenos são expressos em órgãos linfoides geradores, onde são reconhecidos por linfócitos imaturos. Em tecidos periféricos, os autoantígenos interagem com os receptores antigênicos de linfócitos específicos por períodos prolongados, sem inflamação ou imunidade inata.

Tabela 15.2

Fatores que Determinam a Imunogenicidade e Tolerogenicidade de Antígenos Proteicos

	Fatores que Favorecem a Estimulação das Respostas Imunes	Fatores que Favorecem a Tolerância
Persistência	Vida curta (eliminada pela resposta imune)	Prolongada, levando à persistência do engajamento do receptor antigênico
Porta de entrada; localização	Subcutânea, intradérmica; ausência nos órgãos geradores	Intravenosa, mucosa; presença nos órgãos centrais
Presença de adjuvantes	Antígenos com adjuvantes: estimulam células T auxiliares	Antígenos sem adjuvantes: ausência de coestimulação
Propriedades de APCs	Células dendríticas maduras: altos níveis de coestimuladores	Células dendríticas imaturas (em reuposo): baixos níveis de coestiuladores e citocinas

APCs, Células apresentadoras de antígenos.

A natureza da célula dendrítica que exibe antígenos para os linfócitos T é um determinante importante da resposta subsequente. As células dendríticas residentes dos órgãos linfoides e dos tecidos não linfoides podem apresentar autoantígenos para os linfócitos T e manter a tolerância. Células dendríticas teciduais normalmente ficam em um estado de repouso (imaturo) e expressam baixos níveis de coestimuladores; algumas podem trafegar em pequenas quantidades a partir dos epitélios, mesmo que em um estado basal (na ausência de infecção ou inflamação). Tais APCs podem apresentar autoantígenos constantemente sem fornecerem forte coestimulação, e as células T que reconhecem esses antígenos se

tornam anérgicas ou se diferenciam em linfócitos T reguladores, em vez de se diferenciarem em linfócitos efetores e de memória. Em contrapartida, as células dendríticas que são ativadas por microrganismos constituem as principais APCs para iniciarem as respostas das células T (Capítulo 6). Conforme discutiremos adiante, infecções locais e inflamação podem ativar células dendríticas residentes, levando à expressão aumentada de coestimuladores, quebra da tolerância e reações autoimunes contra antígenos teciduais. Há grande interesse na manipulação das propriedades de células dendríticas como forma de potencializar ou inibir as respostas imunológicas para fins terapêuticos.

Nosso entendimento sobre os mecanismos que conectam os sinais recebidos por uma célula T no momento do reconhecimento do antígeno e o destino dessa célula T permanece incompleto. Esses conceitos baseiam-se amplamente em modelos experimentais, nos quais os antígenos são administrados a camundongos ou produzidos por transgenes expressos nesses animais. Um dos desafios contínuos nesse campo é definir os mecanismos pelos quais vários autoantígenos normalmente expressos induzem tolerância, de maneira especial em seres humanos.

Tolerância dos Linfócitos B

A tolerância dos linfócitos B é necessária para manter a não responsividade aos autoantígenos timo-independentes, como polissacarídeos e lipídeos. A tolerância das células B também desempenha um papel na prevenção de respostas dos anticorpos a antígenos proteicos. Estudos experimentais revelaram múltiplos mecanismos pelos quais o encontro com os autoantígenos pode abortar a maturação e ativação da célula B.

Tolerância Central das Células B

Os linfócitos B imaturos que reconhecem autoantígenos na medula óssea com alta afinidade mudam sua especificidade ou são deletados (Fig. 15.11).

- ***Edição dos receptores***. Se células B maduras reconhecem autoantígenos que estão presentes em alta concentração na medula óssea, e especialmente se o antígeno é exibido em uma forma multivalente (p. ex.: superfícies celulares), muitos receptores antigênicos em cada célula B fazem ligações cruzadas, transmitindo fortes sinais para as células. Conforme discutido no Capítulo 8, uma consequência desse tipo de sinalização é que as células B reativam seus genes *RAG1* e *RAG2* e iniciam uma nova rodada de recombinação VJ no *locus* dos genes de cadeia leve κ de Ig. Um segmento Vκ *upstream* da unidade VκJκ já rearranjada é unido a um Jκ *downstream*. Como resultado, o éxon VκJκ previamente rearranjado na célula B imatura autorreativa é deletado, e uma nova cadeia leve de Ig é expressa, criando, assim, um receptor de célula B (BCR, do inglês, *B cell receptor*) com uma nova especificidade. Esse processo é chamado *edição do receptor* e consiste em um importante mecanismo para eliminação da autorreatividade do repertório de células B maduras. Se o rearranjo da cadeia leve editada não for produtivo, rearranjos adicionais Vκ-para-Jκ serão feitos no mesmo *locus*. Caso todos os rearranjos falhem, o processo deverá continuar no *locus* κ do outro coromossomo, e se continuarem sendo não produtivos, ocorrerão rearranjos nos *loci* de cadeia leve λ. Uma célula B expressando uma cadeia leve λ frequentemente é uma célula que já passou pela edição do receptor. Estima-se que entre as células B do sangue

periférico em humanos, algo como um quarto até metade de todas as células, e a maioria das células expressando λ devem ter passado por edição do receptor durante sua maturação.

- ***Deleção***. Se a edição falhar, as células B imaturas podem morrer por apoptose. Os mecanismos de deleção não estão bem definidos ainda.
- ***Anergia***. Se células B em desenvolvimento reconhecerem autoantígenos fracamente (p. ex.: se o antígeno é solúvel e não realiza muitas ligações cruzadas com receptores antigênicos, ou se os BCRs reconhecerem o antígeno com baixa afinidade), as células tornam-se funcionalmente não responsivas (anérgicas) e saem da medula óssea nesse estado de não responsividade. A anergia decorre da regulação negativa da expressão do receptor antigênico, assim como a um bloqueio na sua sinalização.

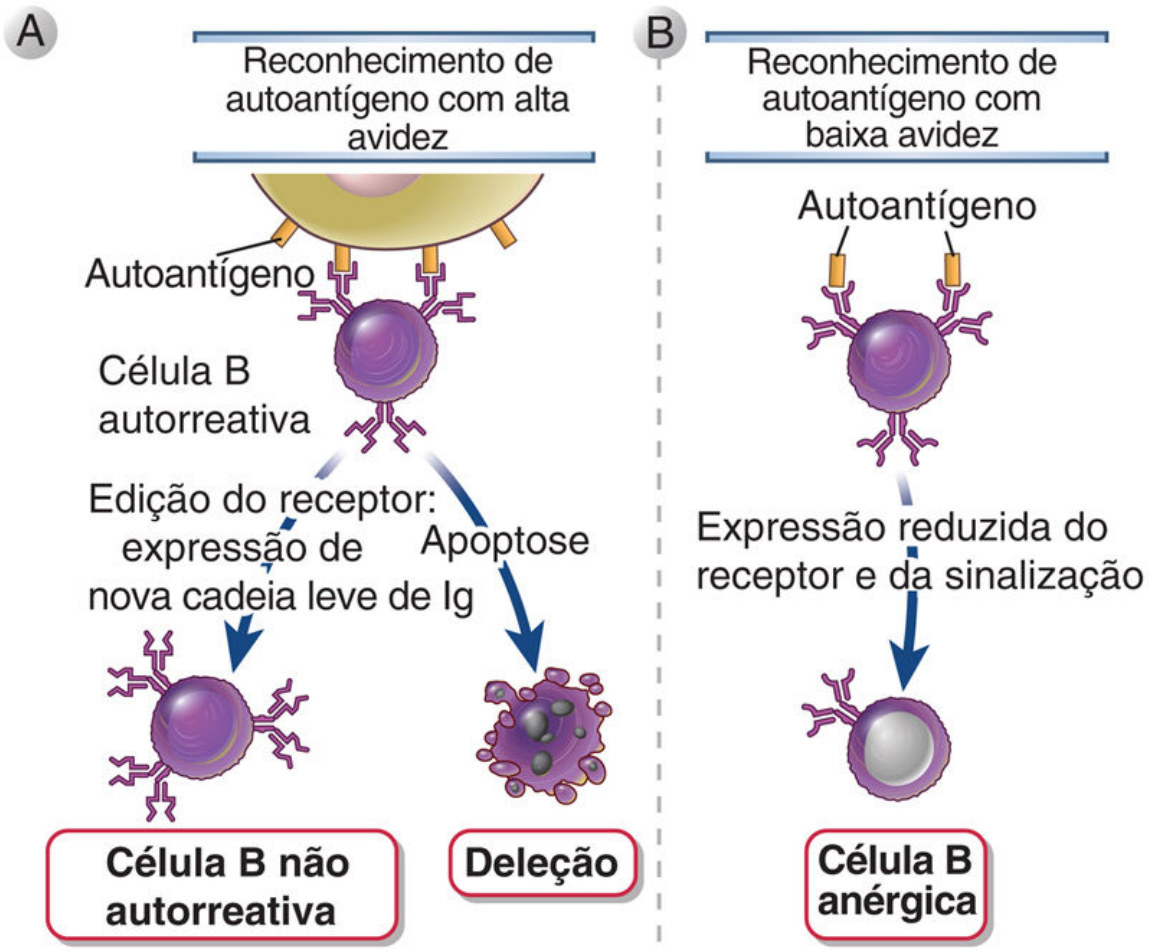


FIGURA 15.11 Tolerância central das células B.
A, Células B imaturas que reconhecem autoantígenos na medula óssea com alta avidez (p. ex.: matrizes polivalentes de antígenos nas células), morrem por apoptose ou alteram a especificidade de seus receptores antigênicos (edição do receptor, a qual envolve somente as cadeias leves, mas é ilustrada como uma alteração da região de ligação ao antígeno do receptor). **B,** O fraco reconhecimento de autoantígenos na medula óssea pode levar à anergia (inativação funcional) das células B.

Tolerância Periférica das Células B

Linfócitos B maduros que reconhecem autoantígenos em tecidos periféricos na ausência de células T auxiliares específicas podem ser considerados funcionalmente não responsivos ou morrer por apoptose (Fig. 15.12). Os sinais das células T auxiliares podem estar ausentes se essas células T tiverem sido deletadas ou estiverem anérgicas, ou se os

autoantígenos forem antígenos não proteicos. Uma vez que autoantígenos geralmente não elicitam respostas imunes inatas, as células B também não serão ativadas via receptores de complemento ou receptores de reconhecimento de padrões. Desse modo, assim como ocorre com as células T, o reconhecimento de antígeno na ausência de estímulos adicionais resulta em tolerância. Os mecanismos de tolerância periférica também eliminam clones de células B autorreativos que podem ser gerados como uma consequência não intencional da mutação somática nos centros germinativos.

- ***Anergia e deleção***. Algumas células B autorreativas que são repetidamente estimuladas por autoantígenos tornam-se não responsivas a ativações subsequentes. As células B anérgicas requerem níveis mais altos do que o normal do fator de crescimento BAFF (do inglês, *B cell activating fator*), também chamado BLys (do inglês, *B lymphocyte stimulator*), para sua sobrevivência e não podem competir eficientemente pela sobrevivência com células B *naive* normais pelo BAFF. Como resultado, as células B que encontraram autoantígenos têm sobrevida menor e são eliminadas mais rapidamente do que as células que ainda não reconheceram autoantígenos. As células B que se ligam com alta avidez aos autoantígenos na periferia também podem sofrer morte por apoptose pela via mitocondrial.
- ***Sinalização pelos receptores de inibição***. As células B que reconhecem autoantígenos podem ser impedidas de responder por meio do acoplamento de vários receptores de inibição. A função desses receptores inibidores é definir um limiar para ativação da célula B e assim permitir respostas a antígenos estranhos, porque estes tipicamente elicitam sinais fortes provenientes da combinação do BCR, de correceptores, receptores da imunidade inata e células T auxiliares (para antígenos proteicos), mas não respostas a autoantígenos, as quais acoplam apenas o BCR. Esse mecanismo de tolerância periférica foi revelado por estudos mostrando que camundongos com defeitos na tirosina fosfatase SHP-1, na tirosina quinase Lyn e nos receptores de inibição FcγRIIb e CD22 desenvolvem autoimunidade. Motivos de ativação com base na tirosina do imunorreceptor (ITIMs, do inglês, *immunoreceptor tyrosine-based activation motifs*) localizados na cauda citoplasmática do CD22 são fosforilados por Lyn, e esse receptor inibidor recruta SHP-1, atenuando assim a sinalização do BCR.

Entretanto, ainda não se sabe quando receptores de inibição como o CD22 são acoplados nem quais ligantes reconhecem.

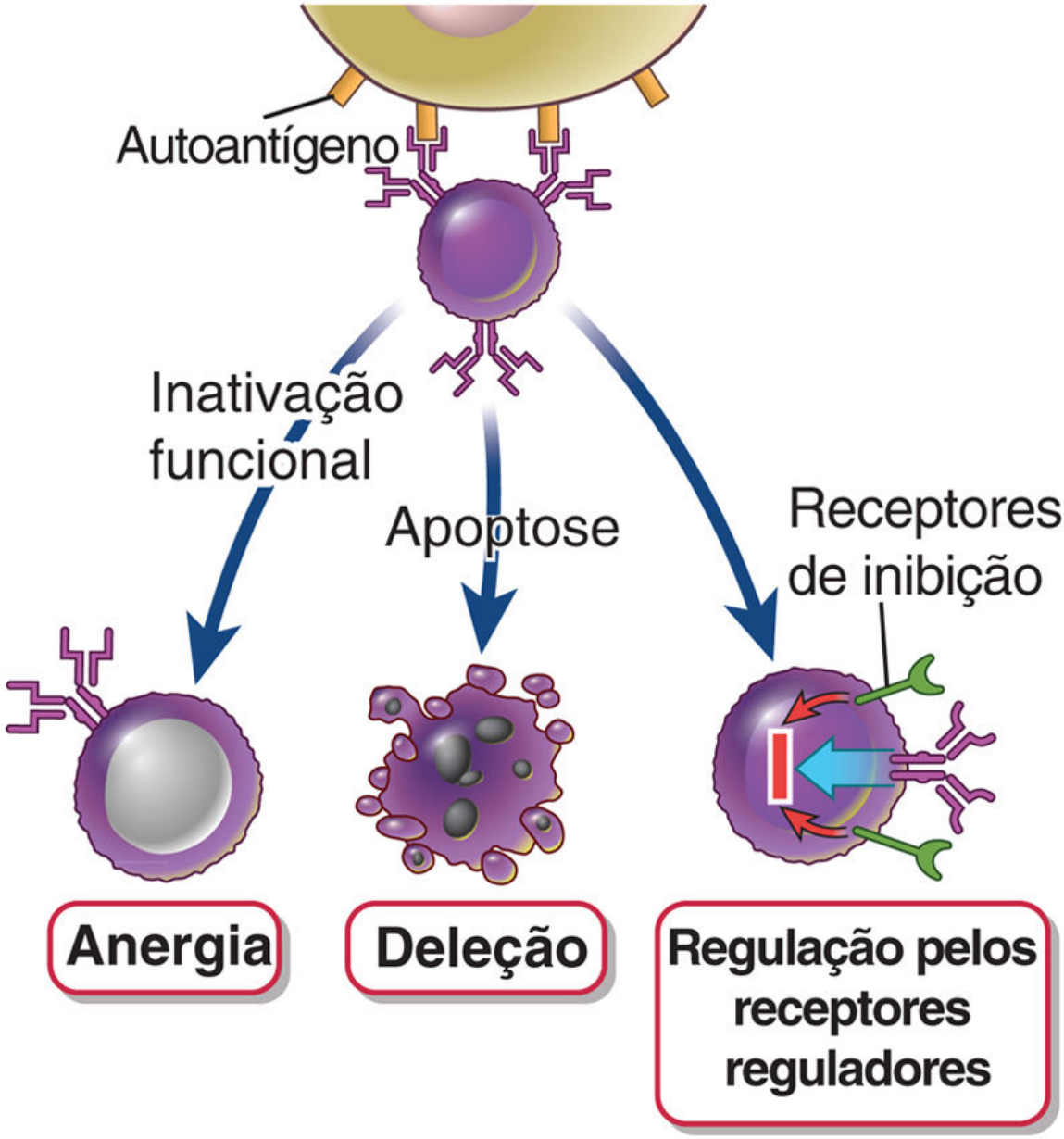


FIGURA 15.12 Tolerância periférica da célula B.
As células B que encontram autoantígenos em tecidos periféricos tornam-se anérgicas ou morrem por apoptose. Em algumas situações, o reconhecimento de autoantígenos pode desencadear receptores de inibição que impedem a ativação da célula B.

Tolerância a Microrganismos Comensais e Outros Antígenos Estranhos

Microrganismos comensais são abundantes no intestino, pele e outros tecidos, mas não elicitam respostas imunes, mesmo sendo estranhos. Há várias razões para essa ausência de imunogenicidade. Muitos desses microrganismos não são capazes de invadir as barreiras epiteliais e, portanto, podem não estar acessíveis para o sistema imune adaptativo. Microrganismos comensais elicitam pouca ou nenhuma resposta imune inata e assim falham em induzir coestimuladores e outros sinais necessários para respostas imunes adaptativas efetivas. Esses microrganismos também induzem e ativam Tregs, as quais previnem o desenvolvimento de células efetoras e de memória.

Antígenos estranhos podem ser administrados de maneira que induzam preferencialmente a tolerância, em vez de respostas imunológicas. Entender como induzir a tolerância por meio da administração de antígenos é a chave para o desenvolvimento da tolerância antígeno-específica como uma estratégia de tratamento para doenças imunológicas. Em geral, antígenos proteicos administrados com adjuvantes favorecem a imunidade, ao passo que doses repetidas de antígenos administradas sem adjuvantes tendem a induzir tolerância. A provável razão para isso é que os adjuvantes estimulam respostas imunológicas inatas e a expressão de coestimuladores nas APCs, enquanto que, na ausência desses segundos sinais, as células T que reconhecem o antígeno podem tornar-se anérgicas, morrer ou diferenciar-se em Tregs. Muitas outras características dos antígenos e a forma como são administrados podem influenciar o equilíbrio entre a imunidade e a tolerância (Tabela 15.2).

A administração oral de um antígeno proteico frequentemente leva à supressão das respostas imunológicas humorais e mediadas por célula sistêmicas em resposta à imunização com esse mesmo antígeno. Esse fenômeno, chamado **tolerância oral**, foi discutido no Capítulo 14.

Mecanismos de Autoimunidade

A possibilidade de que o sistema imunológico de um indivíduo pudesse reagir contra antígenos autólogos e causar dano tecidual foi avaliada por imunologistas na época em que a especificidade do sistema imunológico para antígenos estranhos foi reconhecida. No início da década de 1900, Paul Ehrlich cunhou a expressão um tanto melodramática "*horror autotóxico*" (o horror à autotoxicidade) para descrever o temor da autodestruição do organismo pelo sistema imunológico. A autoimunidade é uma causa importante de doenças em humanos, e estima-se que afeta pelo menos 2 a 5% da população dos Estados Unidos. O termo *autoimunidade* é com frequência usado erroneamente para qualquer doença em que as reações imunes são acompanhadas de dano tecidual, embora seja difícil ou mesmo impossível estabelecer um papel para as respostas imunes contra autoantígenos particulares como causa desses distúrbios. Como a inflamação é um componente importante dessas doenças, costuma-se agrupá-las como *doenças inflamatórias imunomediadas*, o que não implica na resposta patológica sendo direcionada contra autoantígenos (Capítulo 19).

As questões fundamentais a respeito da autoimunidade são como a autotolerância falha e como os linfócitos autorreativos são ativados. Respostas a essas perguntas são necessárias para a compreensão da etiologia e da patogênese das doenças autoimunes, um dos principais desafios da Imunologia. Nosso entendimento sobre autoimunidade melhorou bastante durante as duas últimas décadas, principalmente em decorrência do desenvolvimento de modelos animais informativos dessas doenças, da identificação de genes que podem predispor à autoimunidade, e do aprimoramento de métodos para a análise das respostas imunes em seres humanos.

Os fatores que contribuem para o desenvolvimento da autoimunidade são a suscetibilidade genética e os desencadeadores ambientais, como infecções e lesão tecidual local. Genes de suscetibilidade podem quebrar os mecanismos de autotolerância, enquanto a infecção ou necrose nos tecidos promovem o influxo de linfócitos autorreativos e a ativação dessas células, resultando em lesão tecidual (Fig. 15.13). Infecções e lesão tecidual também podem alterar a forma como os autoantígenos são exibidos para o sistema imune, levando à falha da autotolerância e à ativação dos linfócitos autorreativos. Os papéis desses fatores no desenvolvimento da autoimunidade serão discutidos posteriormente. Outros fatores como

mudanças no microbioma do hospedeiro e alterações epigenéticas nas células imunes podem desempenhar papéis importantes na patogênese, mas os estudos sobre esses tópicos estão apenas no início.

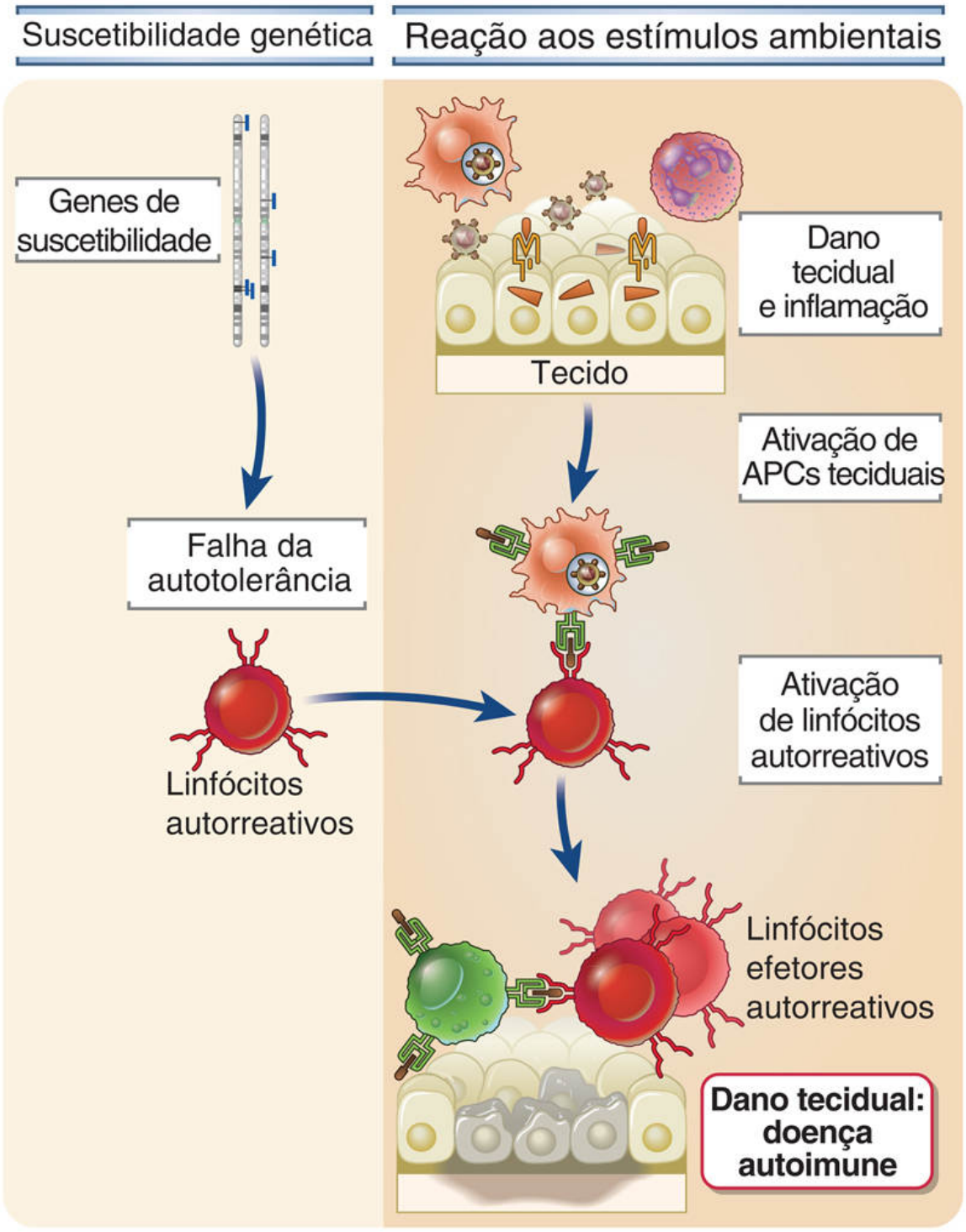


FIGURA 15.13 Mecanismos postulados de autoimunidade. Neste modelo proposto de uma doença autoimune órgão-específica mediada por célula T, vários *loci* gênicos podem causar suscetibilidade à autoimunidade, em parte por influenciarem a manutenção da autotolerância. Fatores ambientais desencadeadores, como infecções e outros estímulos inflamatórios,

promovem o influxo de linfócitos para os tecidos e a ativação de células T autorreativas, resultando em lesão tecidual.

Características Gerais das Doenças Autoimunes

As doenças autoimunes podem ser sistêmicas ou órgão-específicas dependendo da distribuição dos autoantígenos que são reconhecidos. Por exemplo, a formação de imunocomplexos circulantes compostos de autoantígenos e anticorpos específicos tipicamente produz doenças sistêmicas, como o lúpus eritematoso sistêmico (LES). Ao contrário, respostas de autoanticorpos ou de células T contra autoantígenos com distribuição tecidual restrita levam a doenças órgão-específicas, como a miastenia grave, diabetes tipo 1 (T1D, do inglês, *type 1 diabetes*) e esclerose múltipla.

Vários mecanismos efetores são responsáveis pela lesão tecidual em diferentes doenças autoimunes. Esses mecanismos incluem imunocomplexos, autoanticorpos circulantes e linfócitos T autorreativos e serão discutidos no Capítulo 19. As características clínicas e patológicas da doença geralmente são determinadas pela natureza da resposta autoimune dominante.

Doenças autoimunes tendem a ser crônicas, progressivas e de autoperpetuação. As razões para essas características são que os autoantígenos que desencadeiam essas reações são persistentes e, uma vez que a resposta imunológica se inicia, muitos mecanismos de amplificação são ativados e perpetuam essa resposta. Adicionalmente, uma resposta iniciada contra um autoantígeno que lesiona tecidos pode resultar na liberação e alteração de outros antígenos teciduais, na ativação de linfócitos específicos para esses outros antígenos e na exacerbação da doença. Esse fenômeno, conhecido como **propagação do epítopo**, pode explicar por que, uma vez desenvolvida a doença autoimune, esta pode se tornar prolongada e se autoperpetuar.

Anormalidades Imunológicas que Levam à Autoimunidade

Diversas aberrações imunológicas têm sido mais frequentemente associadas com o desenvolvimento de autoimunidade em seres humanos e modelos experimentais. As principais anormalidades desse tipo são:

- ***Autotolerância defeituosa. Eliminação ou regulação inadequadas das células T ou B, levando ao desequilíbrio entre ativação e controle de linfócitos, é a causa subjacente a todas as doenças autoimunes***. O potencial para autoimunidade existe em todos os indivíduos, porque algumas das especificidades geradas aleatoriamente nos clones de linfócitos podem ser para autoantígenos, e muitos autoantígenos estão prontamente acessíveis aos linfócitos. Conforme discutido anteriormente, a tolerância a autoantígenos é normalmente mantida por meio de processos de seleção que previnem a maturação de alguns linfócitos específicos para autoantígenos e de mecanismos que inativam ou deletam linfócitos autorreativos que amadurecem. A perda da autotolerância pode ocorrer se os linfócitos autorreativos não forem deletados ou inativados e se as APCs forem ativadas de tal maneira que autoantígenos sejam apresentados ao sistema imune de forma imunogênica. Modelos experimentais e estudos limitados em humanos mostram que qualquer um dos mecanismos a seguir pode contribuir para a falha da autotolerância:
    - Defeitos na deleção (seleção negativa) de células T ou B ou na edição de receptor em células B durante a maturação dessas células nos órgãos linfoides geradores
    - Defeitos nos números ou funções de linfócitos T reguladores
    - Apoptose defeituosa de linfócitos autorreativos maduros
    - Função inadequada de receptores de inibição
- ***Exibição anormal de autoantígenos***. Esse tipo de anormalidade pode incluir a expressão aumentada e a persistência de autoantígenos que são normalmente removidos, ou alterações estruturais nesses antígenos resultantes de modificações enzimáticas, de estresse ou lesão celular. Se essas alterações levarem à exibição de epítopos antigênicos que normalmente não estão presentes, o sistema imune pode não ser tolerante a esses "neoantígenos", permitindo dessa forma o desenvolvimento de respostas contra o próprio.
- ***Inflamação ou uma resposta imune inata inicial.*** Conforme abordado em capítulos anteriores, a resposta imune inata é um forte estímulo para a ativação subsequente de linfócitos e para a geração de respostas imunes adaptativas. Infecções ou danos

celulares podem elicitar reações imunes inatas locais com inflamação. Essas reações podem contribuir para o desenvolvimento de doença autoimune, talvez pela ativação das APCs, a qual se sobrepõe aos mecanismos reguladores e resulta em ativação excessiva da célula T.

Muito da atenção recente tem convergido para o papel das células T na autoimunidade, por duas razões principais. Primeiro, as células T auxiliares são os reguladores-chave de todas as respostas imunes às proteínas, e muitos autoantígenos envolvidos nas doenças autoimunes são proteínas. Segundo, diversas doenças autoimunes estão geneticamente ligadas ao MHC (o complexo HLA em humanos), e a função das moléculas do MHC é a apresentação de antígenos peptídicos para as células T. A falha da autotolerância em linfócitos T pode resultar em doenças autoimunes, nas quais o dano tecidual é causado por reações imunes mediadas por células. Anormalidades nas células T auxiliares também podem levar à produção de autoanticorpos, porque essas células são necessárias para a produção de anticorpos de alta afinidade contra antígenos proteicos.

Na próxima seção, serão descritos os princípios gerais da patogênese das doenças autoimunes, com ênfase nos genes de suscetibilidade, infecções e outros fatores que contribuem para o desenvolvimento da autoimunidade. A patogênese e as características de algumas doenças autoimunes ilustrativas serão descritos no Capítulo 19.

Bases Genéticas da Autoimunidade

A partir dos primeiros estudos sobre doenças autoimunes em pacientes e animais experimentais, observou-se que essas doenças têm um forte componente genético. Por exemplo, a T1D apresenta uma concordância de 35 a 50% em gêmeos monozigóticos e de 5 a 6% em gêmeos dizigóticos, e outras doenças autoimunes mostram evidência similar de uma contribuição genética. Análise de histórico familiar, estudos de associação genômica ampla e esforços de sequenciamento em grande escala estão revelando novas informações sobre os genes que podem apresentar papel causal no desenvolvimento da autoimunidade e de distúrbios inflamatórios crônicos. A partir desses estudos, vários aspectos gerais da suscetibilidade genética tornaram-se aparentes.

A maioria das doenças autoimunes é decorrente de traços poligênicos complexos nos quais os indivíduos afetados herdam polimorfismos

genéticos múltiplos que contribuem para a suscetibilidade à doença. Esses genes agem em conjunto com os fatores ambientais para causarem as doenças. Alguns desses polimorfismos estão associados a diversas doenças autoimunes, sugerindo que os genes causadores influenciam mecanismos gerais de imunorregulação e autotolerância. Outros *loci* estão associados a doenças particulares, sugerindo que podem afetar o dano aos órgãos ou linfócitos autorreativos de especificidades particulares. Cada polimorfismo genético faz uma pequena contribuição para o desenvolvimento de doenças autoimunes particulares e também é encontrado em indivíduos saudáveis, contudo em uma frequência menor do que em pacientes com as doenças. Postula-se que em pacientes individuais, tais polimorfismos múltiplos são co- -herdados e, juntos, explicam o desenvolvimento da doença. Um dos desafios contínuos nesse campo de estudo é a compreensão da interação dos múltiplos genes entre si e com fatores ambientais.

Os genes mais bem caracterizados associados às doenças autoimunes, assim como o entendimento atual sobre como podem contribuir para a perda da autotolerância, são descritos a seguir.

Associação de Alelos de MHC com Autoimunidade

Dentre os genes que estão associados à autoimunidade, as associações mais fortes são com os genes do MHC. De fato, em muitas doenças autoimunes, como o T1D, 20 a 30 genes associados à doença já foram identificados; na maioria dessas doenças, o *locus* do HLA sozinho contribui para metade ou mais da suscetibilidade genética. A genotipagem do HLA de grandes grupos de pacientes com diversas doenças autoimunes mostra que alguns alelos de HLA ocorrem com maior frequência nesses pacientes do que na população em geral. A partir desses estudos, pode-se calcular a probabilidade de desenvolvimento de uma doença em indivíduos que herdam vários alelos de HLA (frequentemente referido como risco relativo) (Tabela 15.3). A associação mais forte ocorre entre a espondilite anquilosante (uma doença inflamatória das articulações vertebrais, presumivelmente autoimune) e o alelo de classe I HLA-B27. Indivíduos HLA-B27 positivos são mais de 100 vezes mais propensos a desenvolverem espondilite anquilosante do que indivíduos B27 negativos. Não se conhece o mecanismo dessa doença, tampouco a base de sua associação com o HLA-B27. A associação dos alelos de classe II, HLA-DR e HLA-DQ, com doenças autoimunes tem recebido grande atenção, principalmente porque as moléculas do MHC de classe II estão envolvidas

na seleção e ativação das células T $CD4^+$, que regulam as respostas imunológicas humorais e mediadas por célula a antígenos proteicos.

Tabela 15.3

Associação de Alelos de HLA com Doenças Autoimunes

Doença	Alelo de HLA	Razão de Probabilidade
AR (Ac anti-CCP positivo)†	*DRB1*, 1 alelo *SE*‡ *DRB1*, 2 alelos *SE*	4 12
DT1	Haplótipo *DRB1*0301- DQA1*0501-DQB1*0201* Haplótipo *DRB1*0401- DQA1*0301-DQB1*0302* Heterozigotos *DRB1*0301/0401*	4 8 35
Esclerose múltipla	*DRB1*1501*	3
LES	*DRB1*0301* *DRB1*1501*	2 1,3
EA	*B*27* (principalmente *B*2705* e *B*2702*)	100-200
Doença celíaca	Haplótipo *DQA1*0501-DQB1*0201*	7

AR, Artrite reumatoide; DT1, diabetes tipo 1; EA, espondilite anquilosante; LES, lúpus eritematoso sistêmico.

* A razão de probabilidade (do inglês, *odds ratio*) aproxima valores de risco aumentado de doenças associadas à hereditariedade de alelos HLA particulares. Os dados foram coletados de populações com ancestralidade europeia. Alelos de genes do MHC individuais (p. ex.: DRB1) são indicados por quatro números (p. ex.: 0301), com base na tipagem sorológica e molecular.

† Ac anti-CCP, anticorpos antipeptídeos citrulinados cíclicos. Dados são provenientes de pacientes positivos para esses anticorpos no soro.

‡ SE refere-se a epítopo compartilhado, assim chamado porque é uma sequência de consenso da proteína DRB1 (posições 70-74) presente em múltiplos alelos *DRB1*.

Cortesia da Dra. Michelle Fernando, Imperial College, Londres.

Diversas características da associação dos alelos HLA com doenças autoimunes são dignas de nota.

- Uma associação doença-HLA pode ser identificada pela tipagem sorológica de um *locus* de HLA, mas a associação real pode ocorrer

com outros alelos que estão ligados ao alelo tipado e que foram herdados conjuntamente. Por exemplo, indivíduos com um alelo HLA-DR particular (hipoteticamente, DR1) podem mostrar maior probabilidade de herdar um alelo HLA-DQ particular (hipoteticamente, DQ2) do que esses alelos separados e aleatoriamente (p. ex.: em equilíbrio) na população. Tal hereditariedade é um exemplo de desequilíbrio de ligação. Pode-se presumir que uma doença está associada ao DR1 pela tipagem do HLA, mas a associação causal pode ser, na verdade, com o DQ2 co-herdado. Esse entendimento enfatizou o conceito de haplótipos de HLA estendidos, que se refere a conjuntos de genes ligados, tanto genes de HLA-clássicos quanto genes adjacentes não HLA, que tendem a ser herdados juntos, como uma única unidade.

- Em muitas doenças autoimunes, os polimorfismos de nucleotídeos associados à doença codificam aminoácidos das fendas de ligação de peptídeos das moléculas de MHC. Essa observação não é surpreendente, porque os resíduos polimórficos das moléculas do MHC estão localizados dentro e ao redor das fendas, e a estrutura das fendas é o determinante-chave de ambas as funções das moléculas do MHC a saber: apresentação de antígenos e o reconhecimento pelas células T (Capítulo 6).
- Sequências de HLA associadas a doenças são encontradas em indivíduos saudáveis. De fato, se todos os indivíduos que carregam um alelo de HLA particular associado à doença forem monitorados prospectivamente, a maioria deles nunca desenvolverá a doença. Portanto, a expressão de um gene de HLA particular não é, por si só, a causa ou o fator de predição de qualquer doença autoimune, mas pode ser um dos diversos fatores que contribuem para a autoimunidade.

Os mecanismos subjacentes à associação dos diferentes alelos de HLA com várias doenças autoimunes ainda não estão claros. Nas doenças em que alelos particulares do MHC aumentam seu risco, a molécula MHC associada à doença pode apresentar um peptídeo próprio e ativar células T patogênicas, e isso foi estabelecido em alguns casos. Quando um alelo em particular mostra ser protetor, a hipótese é que esse alelo deve induzir seleção negativa de algumas células T potencialmente patogênicas ou que deve promover o desenvolvimento de Tregs.

Polimorfismos em Genes Não HLA Associados à Autoimunidade

Análises de ligação em doenças autoimunes identificaram alguns genes associados às doenças e muitas regiões cromossômicas nas quais a identidade dos genes associados foi especulada, mas não estabelecida. A técnica de estudos de associação genômica ampla levaram à provável identificação de polimorfismos de nucleotídeos (variantes) de diversos genes que estão associados a doenças autoimunes, e essa identificação vem se ampliando pelos recentes esforços de sequenciamento do genoma. Antes de discutir sobre os genes que estão mais claramente validados, é importante resumir algumas das características gerais desses genes.

- Como apresentado anteriormente, é provável que combinações de múltiplos polimorfismos genéticos herdados, interagindo com fatores ambientais, induzem anormalidades imunológicas que levam à autoimunidade. Entretanto, há exemplos de variações genéticas raras que fazem contribuições individuais muito maiores para doenças particulares.
- Muitos dos polimorfismos associados a várias doenças autoimunes estão em genes que influenciam o desenvolvimento e a regulação das respostas imunes. Embora essa conclusão pareça previsível, ela reforçou a utilidade das abordagens que estão sendo utilizadas na identificação de genes associados a doenças.
- Diferentes polimorfismos podem proteger contra o desenvolvimento de uma doença ou aumentar sua incidência. Os métodos estatísticos usados nos estudos de associação genômica ampla revelaram ambos os tipos de associações.
- A maior parte dos polimorfismos associados a doenças localizam-se em regiões não codificadoras dos genes. Isso sugere que muitos dos polimorfismos podem afetar a expressão de proteínas codificadas.

Alguns dos muitos genes associados a doenças autoimunes humanas, definidos por análise de ligação, estudos de associação genômica amplas e sequenciamento genômico completo estão listados na Tabela 15.4 e alguns são brevemente descritos a seguir.

- ***PTPN22***. Uma variante da tirosina fosfatase proteica PTPN22, na qual a arginina da posição 620 é substituída por um triptofano,

está associada a artrite reumatoide, T1D, tireoidite autoimune e outras doenças autoimunes. A variante associada à doença causa complexas alterações de sinalização em múltiplas populações celulares imunes. Não é conhecida de que forma essas alterações precisamente levam à autoimunidade.

- ***NOD2***. Polimorfismos neste gene estão associados à doença de Crohn, um tipo de enteropatia inflamatória. O NOD2 é um sensor citoplasmático de peptidoglicanos bacterianos (Capítulo 4) expresso em múltiplos tipos celulares, incluindo as células epiteliais intestinais. Acredita-se que o polimorfismo associado à doença reduz a função do NOD2, que não pode fornecer defesa efetiva contra certos microrganismos intestinais. Como resultado, esses microrganismos são capazes de atravessar o epitélio e iniciar uma reação inflamatória crônica na parede intestinal, a qual é a marca principal da enteropatia inflamatória (Capítulo 14). Acredita-se também que a doença de Crohn seja decorrente de uma resposta desregulada a microrganismos comensais e não uma doença autoimune verdadeira.
- ***Proteínas do complemento***. Deficiências genéticas de diversas proteínas do complemento, incluindo C1q, C2 e C4 (Capítulo 13) estão associadas a doenças autoimunes semelhantes ao lúpus. O mecanismo proposto dessa associação é que a ativação do complemento promove a remoção de imunocomplexos circulantes e de corpos apoptóticos celulares, e na ausência das proteínas do complemento, esses complexos se acumulam no sangue e os antígenos de células mortas persistem. Há também algumas evidências de que a ativação do complemento aumenta a sinalização em células B e promove tolerância, porém não está claro como, ou mesmo se, o sistema complemento é ativado por autoantígenos.
- ***Receptor de IL-23 (IL-23R)***. Alguns polimorfismos no receptor de IL-23 estão associados à suscetibilidade aumentada para a enteropatia inflamatória e para a doença de pele chamada psoríase, enquanto outros polimorfismos protegem contra o desenvolvimento dessas doenças. A IL-23 é uma das citocinas envolvidas no desenvolvimento das células Th17, que estimulam reações inflamatórias (Capítulo 10).
- ***CD25 (IL-2Rα).*** Os polimorfismos que afetam a expressão ou função do CD25, a cadeia α do receptor de IL-2, estão associados à esclerose múltipla, T1D e outras doenças autoimunes. Essas

alterações no CD25 provavelmente afetam a geração ou função das Tregs, embora não haja evidência definitiva para uma ligação causal entre a anormalidade de CD25, defeitos de Tregs e a doença autoimune.

- ***FcγRIIB***. Um polimorfismo que substitui uma isoleucina por uma treonina no domínio transmembrana desse receptor Fc inibidor (Capítulo 12) prejudica a sinalização de inibição e está associado ao LES em humanos. A deleção genética desse receptor em camundongos também resulta em uma doença autoimune semelhante ao lúpus. O mecanismo provável da doença é uma falha no controle da inibição de células B mediada pelo *feedback* de anticorpos.
- ***ATG16L1***. Um polimorfismo de perda de função neste gene, no qual há a substituição de uma treonina na posição 300 por uma alanina, está associada à doença de Crohn. A ATG16L1 é membro de uma família de proteínas envolvidas em autofagia, uma resposta celular à infecção, privação de nutrientes e outras formas de estresse. Ainda não se sabe de que forma esse polimorfismo contribui para a enteropatia inflamatória; alguns mecanismos possíveis são discutidos no Capítulo 14.
- ***Insulina.*** Polimorfismos no gene da insulina que codifiquem números variáveis de sequências repetidas, estão associados à T1D. Esses polimorfismos podem afetar a expressão tímica da insulina. Postula-se que, se a proteína é expressa em baixos níveis no timo por causa de um polimorfismo genético, as células T em desenvolvimento específicas para insulina não podem ser selecionadas negativamente. Essas células sobrevivem no repertório imunológico maduro e são capazes de atacar células β das ilhotas produtoras de insulina, causando diabetes.

Tabela 15.4

Genes Não HLA Associados com Doenças Autoimunes

Gene	Função da Proteína	Doença
Sinalização e Fatores de Transcrição		
PTPN22	Sinalização do TCR e BCR e outra?	AR, LES, DAIT, DT1
BLK	Ativação da célula B	LES
IRF5	Produção de IFN do Tipo I	LES
TRAF1	Regula a sinalização de TNFR, via do NF-κB	AR
STAT4	Resposta de IFN-γ	AR, LES
Imunidade Inata		
NOD2	Receptor citosólico de peptideoglicanos bacterianos	DC
C1q,C2, C4 do complemento	Remoção de imunocomplexos e corpos apoptóticos; papel na tolerância de células B?	LES
Citocinas, Receptores de Citocinas, Citocinas Sinalizadoras		
IL-2/IL-21	Ativação de células T, manutenção de Treg (IL-2)	DT1, AR, Doença celíaca
IL-23R	Diferenciação de Th17	AP, PS, DC, EA
IL2α (CD25)	Ativação de células T, manutenção de Treg	EM, DT1, DG
IL-7Rα	Sobrevivência de células T *naive* e de memória	EM,
IL-12B (p40)	Diferenciação de Th1	PS, DC
IL-10	Inibição de respostas Th1	EI, LES, DT1
Regulação de Linfócitos		
CTLA-4	Inibição de células T, função de Treg	DT1, AR
FcγRIIB	Inibição de células B por *feedback*	LES
Relacionado à Autofagia		
ATG16L1	Autofagia	DC
Autoantígenos		
Insulina	Antígeno de célula β da ilhota pancreática	DT1
Receptor TSH	Antígeno tireoidiano	AITD

Gene	Função da Proteína	Doença
Processamento de Antígeno ou Enzimas Modificadoras		
ARTS1	Clivagem do peptídeo para via do MHC de classe I	EA
PAD14	Citrulinação de peptídeos próprios	AR

A tabela lista alguns dos *loci* gênicos não HLA nos quais os polimorfismos estão associados a várias doenças autoimunes comuns. Os exemplos selecionados são discutidos no texto.

AR, artrite reumatoide; AP, artrite psoriática; DAIT, doença autoimune da tireiode; DC, doença de Crohn; DG, doença de Graves; DT1, diabetes tipo 1; EA, espondilite anquilosante; EI: enteropatia inflamatória; EM, esclerose múltipla; LES, lúpus eritematoso sistêmico; PS, psoríase.

Modificado de Gregersen PK, Olsson LM: Recent advances in the genetics of autoimmune diseases, *Annual Review of Immunology* 27:363-391, 2009.

Embora muitas associações genéticas com doenças autoimunes já tenham sido relatadas, a correlação dos polimorfismos genéticos com a patogênese das doenças continua sendo um desafio. Também é possível que alterações epigenéticas possam regular a expressão gênica, contribuindo assim para o surgimento da doença. Essa possibilidade ainda precisa ser estabelecida.

Anormalidades Herdadas de Gene Único (Mendelianas) que Causam Autoimunidade

Estudos em modelos murinos e em pacientes identificaram diversos genes que influenciam fortemente a manutenção da tolerância a autoantígenos (Tabela 15.5). Ao contrário dos polimorfismos complexos descritos anteriormente, esses defeitos de gene único são exemplos de doenças mendelianas nas quais a mutação é rara, mas apresenta uma alta penetrância, de modo que a maioria dos indivíduos portadores da mutação são afetados. Muitos desses genes foram mencionados anteriormente no capítulo, quando os mecanismos de autotolerância foram discutidos. Embora esses genes estejam associados a doenças autoimunes raras, sua identificação forneceu informações valiosas a respeito da importância de várias vias moleculares na manutenção da autotolerância. Os genes conhecidos contribuem para os mecanismos estabelecidos de tolerância central (*AIRE*), produção de Tregs (*FOXP3, IL2, IL2R*), anergia e função das Tregs (*CTLA4*), deleção periférica de linfócitos T e B (*FAS,*

FASL) e inativação de células T patogênicas em tecidos associados à mucosa (*IL10, IL10R*).

Tabela 15.5

Exemplos de Mutações de Genes Únicos que Causam Doenças Autoimunes

Gene	Fenótipo do Camundongo Mutante ou Deficiente	Mecanismo de Falha de Tolerância	Doença Humana
AIRE	Destruição de orgãos endócrinos por anticorpos, linfócitos	Falha da tolerância central	APS
C4	LES	Remoção defeituosa de imunocomplexos; falha da tolerância de células B	LES
CTLA4	Linfoproliferação; infiltrados de células T em múltiplos órgãos; letal em 3-4 semanas	Função defeituosa de Tregs; falha na anergia de células T	Doença inflamatória sistêmica
Fas/FasL	Anti-DNA e outros autoanticorpos; nefrite mediada por imunocomplexos; artrite; linfoproliferação	Deleção defeituosa de células B autorreativas e células T $CD4^+$	ALPS
FoxP3	Infiltrados linfocíticos em múltiplos órgãos, fadiga	Deficiência de Treg funcionais	IPEX
IL10, IL10R	Enteropatia inflamatória	Controle defeituoso das respostas imunes de mucosa	Colite (mutações no IL10R)
IL2, IL2Rα/β	Enteropatia inflamatória; autoanticorpos antieritrócitos e anti-DNA	Defeitos no desenvolvimento, sobrevivência ou função de Tregs	Nenhuma conhecida
SHP1	Múltiplos autoanticorpos	Falha na regulação negativa de células B	Nenhuma conhecida

Os papéis dessas mutações como causadoras de autoimunidade foram estabelecidos por doenças herdadas em humanos e em camundongos deficientes nesses genes. *AIRE*, Gene regulador autoimune; *ALPS*, síndrome linfoproliferativa autoimune; *APS*, síndrome poliendócrina autoimune; *IL-2*, interleucina-2; *IPEX*, desregulação imune, poliendocrinopatia e enteropatia ligada ao X; *LES*, lúpus eritematoso sistêmico, *SHP-1,* fosfatase contendo SH2, *Tregs*, células T reguladoras.

Papel das Infecções na Autoimunidade

Infecções virais e bacterianas podem contribuir para o desenvolvimento e exacerbação da autoimunidade. Em pacientes e em alguns modelos

animais, o surgimento das doenças autoimunes está frequentemente associado a infecções ou é precedido pelas mesmas. Na maioria desses casos, o microrganismo infeccioso não está presente em lesões nem mesmo é detectável no indivíduo quando a autoimunidade se desenvolve. Portanto, as lesões da autoimunidade não se devem ao agente infeccioso por si só, mas resultam das respostas imunes do indivíduo, que podem ser desencadeadas ou desreguladas pelo microrganismo.

As infecções podem promover o desenvolvimento da autoimunidade por meio de dois mecanismos principais (Fig. 15.14).

- Infecções de tecidos particulares podem induzir respostas imunológicas inatas locais que recrutam leucócitos para os tecidos e resultam na ativação de APCs teciduais. Essas APCs passam a expressar coestimuladores e secretar citocinas ativadoras de células T, resultando na quebra da tolerância da célula T. Assim, a infecção resulta na ativação de células T que não são específicas para o patógeno infeccioso; esse tipo de resposta é denominada **ativação *bystander***. A importância da expressão aberrante de coestimuladores é sugerida pela evidência experimental de que a imunização de camundongos com autoantígenos na presença de adjuvantes fortes (que mimetizam microrganismos) resulta na quebra da autotolerância e no desenvolvimento de doença autoimune. Em outros modelos experimentais, antígenos virais expressos em tecidos como as células β das ilhotas pancreáticas induzem tolerância na célula T, enquanto a infecção sistêmica de camundongos com o vírus resulta em falha da tolerância e destruição autoimune das células produtoras de insulina.

Microrganismos podem se ligar a receptores do tipo *Toll* (TLRs, do inglês, *Toll-like receptors*) em células dendríticas, levando à produção de citocinas ativadoras de linfócitos e, em células B autorreativas, levando à produção de autoanticorpos. Modelos murinos de lúpus demonstraram um papel da sinalização de TLR na autoimunidade.

- Microrganismos infecciosos podem conter antígenos que reagem de maneira cruzada com autoantígenos, de modo que respostas imunológicas a esses microrganismos podem resultar em reações contra autoantígenos. Esse fenômeno chama-se **mimetismo molecular**, porque os antígenos do microrganismo reagem cruzadamente, ou mimetizam, os autoantígenos. Um exemplo de reatividade imunológica cruzada entre antígenos microbianos e

autoantígenos é a febre reumática, que se desenvolve após infecções estreptocócicas e é causada por anticorpos antiestreptocócicos que têm reatividade cruzada com proteínas do miocárdio. Esses anticorpos são depositados no coração, causando miocardite. O sequenciamento do DNA revelou numerosos trechos curtos de homologias entre as proteínas miocárdicas e proteínas estreptocócicas. Contudo, o significado de homologias limitadas entre antígenos microbianos e autoantígenos em doenças autoimunes comuns ainda precisa ser estabelecida.

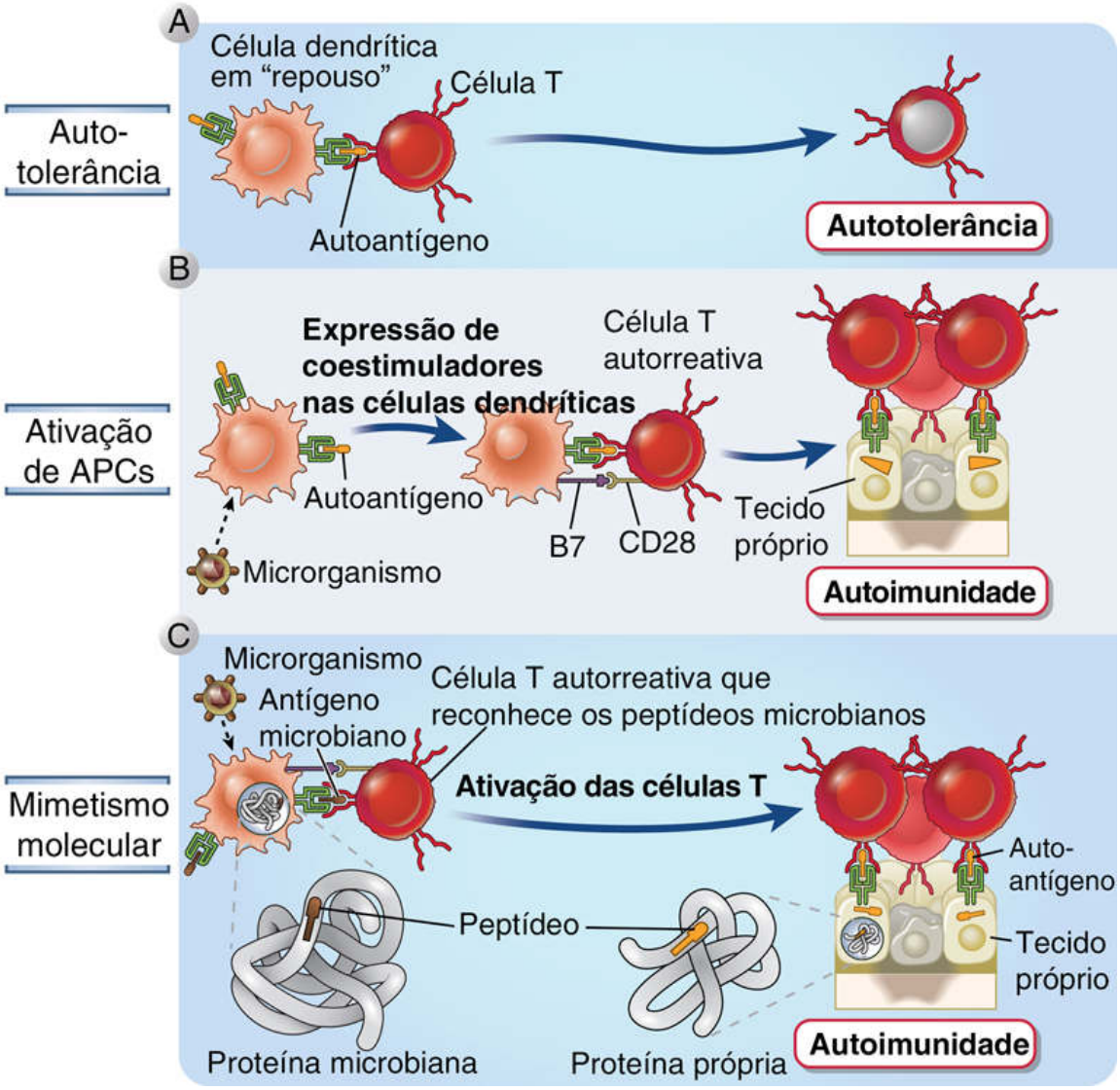


FIGURA 15.14 Papel das infecções no desenvolvimento da autoimunidade.

A, Normalmente, o encontro de uma célula T autorreativa madura com um autoantígeno apresentado por uma APC em repouso com deficiência de coestimuladores resulta em tolerância periférica por anergia. (Outros mecanismos possíveis de autotolerância não são mostrados.) **B,** Microrganismos podem ativar as APCs para que expressem coestimuladores e quando essas APCs apresentam autoantígenos, as células T autorreativas são ativadas em vez de se tornarem tolerantes. **C,** Alguns antígenos microbianos podem apresentar reação cruzada com autoantígenos (mimetismo molecular). Portanto, as respostas imunológicas iniciadas por microrganismos podem ativar células T específicas para autoantígenos.

Algumas infecções podem proteger contra o desenvolvimento da autoimunidade. Estudos epidemiológicos sugerem que a redução de infecções aumenta a incidência de T1D e esclerose múltipla. Estudos experimentais mostram que a diabetes em camundongos NOD (do inglês, *nonobese diabetic*) é bastante retardada se os animais estiverem com infecção. Parece paradoxal que as infecções possam desencadear a autoimunidade e, ao mesmo tempo, possam inibir doenças autoimunes. Ainda não se sabe como as infecções reduzem a incidência de doenças autoimunes.

O microbioma intestinal e cutâneo pode influenciar o desenvolvimento de doenças autoimunes. Conforme discutido no Capítulo 14, humanos são colonizados por microrganismos comensais que têm efeitos significativos na maturação e ativação do sistema imunológico. Essa ideia é sustentada pela descoberta de que alterações no microbioma afetam a incidência e a gravidade de doenças autoimunes em modelos experimentais. O modo pelo qual essa ideia pode ser explorada para o tratamento da autoimunidade é um tópico de grande interesse.

Outros Fatores na Autoimunidade

O desenvolvimento da autoimunidade está relacionado com vários fatores, além da suscetibilidade genética e infecções.

- ***Alterações anatômicas em tecidos, causadas por inflamação (possivelmente secundárias a infecções), lesão isquêmica ou trauma, podem levar à exposição de autoantígenos que normalmente são ocultos ao sistema imunológico***. Tais antígenos "sequestrados" podem não ter induzido autotolerância. Portanto, se forem liberados, esses autoantígenos previamente ocultos podem interagir com linfócitos imunocompetentes e induzir respostas imunes específicas. Exemplos de antígenos anatomicamente sequestrados, nos chamados tecidos "imunoprivilegiados", incluem proteínas intraoculares e do esperma (Capítulo 14). Acredita-se que a uveíte e a orquite pós-traumáticas, as quais podem ser bilaterais mesmo quando o trauma é unilateral, devem-se a respostas autoimunes contra antígenos próprios que são liberados de suas localizações normais pelo trauma.
- ***Influências hormonais desempenham um papel em algumas doenças autoimunes***. Muitas doenças autoimunes têm uma

incidência maior em mulheres do que em homens. Por exemplo, o LES afeta mulheres com uma frequência 10 vezes maior do que os homens. A doença semelhante ao lúpus em camundongos F1 (NZB × NZW) desenvolve-se apenas em fêmeas e é retardada pelo tratamento com hormônios andrógenos. Não se sabe se essa predominância em fêmeas resulta da influência dos hormônios sexuais ou de outros fatores relacionados com o gênero.

As doenças autoimunes estão entre os problemas científicos e clínicos mais desafiadores da Imunologia. O conhecimento atual dos mecanismos patogênicos permanece incompleto, de modo que teorias e hipóteses continuam a ser mais numerosas do que a realidade. Espera-se que a aplicação de novos avanços técnicos e o conhecimento rapidamente crescente sobre a autotolerância levará a respostas mais claras e definitivas sobre os enigmas da autoimunidade.

Resumo

- Tolerância imunológica é a não responsividade a um antígeno, induzida pela exposição de linfócitos específicos a esse antígeno. A tolerância a autoantígenos é uma propriedade fundamental do sistema imune normal, e a falha da autotolerância leva às doenças autoimunes. Antígenos podem ser administrados de forma a induzir tolerância em vez de imunidade, o que pode ser explorado para a prevenção e o tratamento de rejeição a transplantes e de doenças alérgicas e autoimunes.
- A tolerância central é induzida nos órgãos linfoides geradores (timo e medula óssea), quando linfócitos imaturos encontram autoantígenos presentes nesses órgãos. A tolerância periférica ocorre quando linfócitos maduros reconhecem autoantígenos nos tecidos periféricos em condições particulares.
- Em linfócitos T, a tolerância central ocorre quando timócitos imaturos com receptores de alta afinidade para autoantígenos reconhecem esses antígenos no timo. Algumas células T imaturas que encontram autoantígenos no timo morrem (seleção negativa), enquanto outras desenvolvem-se em linfócitos T reguladores (Tregs) FoxP3$^+$ que atuam no controle das respostas a autoantígenos em tecidos periféricos.
- Diversos mecanismos são responsáveis pela tolerância periférica em células T maduras. Em células T CD4$^+$, a anergia é induzida pelo reconhecimento do antígeno sem coestimulação adequada ou por engajamento de receptores de inibição como o CTLA-4 e o PD-1. As Tregs inibem respostas imune por múltiplos mecanismos. As células T que encontram autoantígenos sem outros estímulos ou que são repetidamente estimuladas podem morrer por apoptose.
- Em linfócitos B, a tolerância central é induzida quando células B imaturas reconhecem autoantígenos multivalentes na medula óssea. O resultado é a aquisição de uma nova especificidade, chamada edição de receptor, ou a morte por apoptose das células B imaturas. As células B maduras que reconhecem autoantígenos na periferia, e na ausência de ajuda da célula T, podem tornar-se anérgicas e, ao fim, morrer por apoptose, ou se tornar funcionalmente não responsivas por causa da ativação de receptores inibidores.

- A autoimunidade resulta da autotolerância ou regulação dos linfócitos inadequados. Reações autoimunes podem ser desencadeadas em indivíduos geneticamente suscetíveis por estímulos ambientais como as infecções.
- A maioria das doenças autoimunes é poligênica, e numerosos genes de suscetibilidade contribuem para o seu desenvolvimento. A maior contribuição vem de genes do MHC; acredita-se que outros genes influenciem a seleção ou regulação de linfócitos autorreativos.
- Infecções podem predispor à autoimunidade por meio de diversos mecanismos, incluindo a expressão elevada de coestimuladores nos tecidos e reações cruzadas entre antígenos de microrganismos e autoantígenos. Algumas infecções podem proteger indivíduos da autoimunidade por mecanismos desconhecidos.

Referências Sugeridas

Tolerância Imunológica, Mecanismos Gerais

Baxter AG, Hodgkin PD. Activation rules: the two-signal theories of immune activation. *Nat Rev Immunol*. 2002;2:439–446.

Matzinger P. The danger model: a renewed sense of self. *Science*. 2002;296:301–305.

Mueller DL. Mechanisms maintaining peripheral tolerance. *Nat Immunol*. 2010;11:21–27.

Probst HC, Muth S, Schild H. Regulation of the tolerogenic function of steady-state DCs. *Eur J Immunol*. 2014;44:927–933.

Redmond WL, Sherman LA. Peripheral tolerance of CD8 T lymphocytes. *Immunity*. 2005;22:275–284.

Richards DM, Kyewski B, Feuerer M. Re-examining the nature and function of self-reactive T cells. *Trends Immunol*. 2016;37:114–125.

Schwartz RH. Historical overview of immunological tolerance. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2012;4:a006908.

Steinman RM, Hawiger D, Nussenzweig MC. Tolerogenic dendritic cells. *Annu Rev Immunol*. 2003;21:685–711.

von Boehmer H, Melchers F. Checkpoints in lymphocyte development and autoimmune disease. *Nat Immunol*. 2010;11:14–20.

Wardemann H, Nussenzweig MC. B-cell self-tolerance in humans. *Adv Immunol*. 2007;95:83–110.

Tolerância Central

Anderson MS, Su MA. AIRE expands: new roles in immune tolerance and beyond. *Nat Rev Immunol*. 2016;16:247–258.

Mathis D, Benoist C. Aire. *Annu Rev Immunol*. 2009;27:287–312.

Nemazee D. Receptor editing in lymphocyte development and central tolerance. *Nat Rev Immunol*. 2006;6:728–740.

Stritesky GL, Jameson SC, Hogquist KA. Selection of self-reactive T cells in the thymus. *Annu Rev Immunol*. 2012;30:95–114.

Anergia. Receptores de Inibição

Anderson AC, Joller N, Kuchroo VK. Lag-3, Tim-3, and TIGIT: co-inhibitory receptors with specialized functions in immune regulation. *Immunity*. 2016;44:989–1004.

Bandyopadhyay S, Soto-Nieves N, Macian F. Transcriptional regulation of T cell tolerance. *Semin Immunol*. 2007;19:180–187.

Mueller DL. E3 ubiquitin ligases as T cell anergy factors. *Nat Immunol*. 2004;5:883–890.

Okazaki T, Chikuma S, Iwai Y, et al. A rheostat for immune responses: the unique properties of PD-1 and their advantages for clinical application. *Nat Immunol*. 2013;14:1212–1218.

Schildberg FA, Klein SR, Freeman GJ, Sharpe AH. Coinhibitory pathways in the B7-CD28 ligand-receptor family. *Immunity*. 2016;44:955–972.

Walker LS, Sansom DM. The emerging role of CTLA4 as a cell-extrinsic regulator of T cell responses. *Nat Rev Immunol*. 2011;11:852–863.

Wells AD. New insights into the molecular basis of T cell anergy: anergy factors, avoidance sensors, and epigenetic imprinting. *J Immunol*. 2009;182:7331–7341.

Zhang Q, Vignali DA. Co-stimulatory and co-inhibitory pathways in autoimmunity. *Immunity*. 2016;44:1034–1051.

Apoptose

Griffith TS, Ferguson TA. Cell death in the maintenance and abrogation of tolerance: the five Ws of dying cells. *Immunity*. 2011;35:456–466.

Nagata S. Apoptosis and autoimmune diseases. *Ann N Y Acad Sci*. 2010;1209:10–16.

Strasser A, Puthalakath H, O'Reilly LA, Bouillet P. What do we know about the mechanisms of elimination of autoreactive T and B cells and what challenges remain. *Immunol Cell Biol*. 2008;86:57–66.

Células T Reguladoras

Bilate AM, Lafaille JJ. Induced $CD4^{+}Foxp3^{+}$ regulatory T cells in immune tolerance. *Annu Rev Immunol*. 2012;30:733–758.

Campbell DJ. Control of Regulatory T cell migration, function, and homeostasis. *J Immunol*. 2015;195:2507–2513.

Chaudhry A, Rudensky AY. Control of inflammation by integration of environmental cues by regulatory T cells. *J Clin Invest*. 2013;123:939–944.

Gratz IK, Campbell DJ. Organ-specific and memory Treg cells: specificity, development, function, and maintenance. *Front Immunol*. 2014;5:333.

Jiang TT, Chaturvedi V, Ertelt JM, et al. Regulatory T cells: new keys for further unlocking the enigma of fetal tolerance and pregnancy complications. *J Immunol*. 2014;192:4949–4956.

Josefowicz SZ, Rudensky A. Control of regulatory T cell lineage commitment and maintenance. *Immunity*. 2009;30:616–625.

Klatzmann D, Abbas AK. The promise of low-dose interleukin-2 therapy for autoimmune and inflammatory diseases. *Nat Rev Immunol*. 2015;15:283–294.

Ohkura N, Kitagawa Y, Sakaguchi S. Development and maintenance of regulatory T cells. *Immunity*. 2013;38:414–423.

Overacre AE, Vignali DA. Treg stability: to be or not to be. *Curr Opin Immunol*. 2016;39:39–43.

Panduro M, Benoist C, Mathis D. Tissue Tregs. *Annu Rev Immunol*. 2016;34:609–633.

Perdigoto AL, Chatenoud L, Bluestone JA, Herold KC. Inducing and administering Tregs to treat human disease. *Front Immunol*. 2015;6:654.

Ramsdell F, Ziegler SF. FOXP3 and scurfy: how it all began. *Nat Rev Immunol*. 2014;14:343–349.

Sakaguchi S, Miyara M, Costantino CM, Hafler DA. FOXP3^{+} regulatory T cells in the human immune system. *Nat Rev Immunol*. 2010;10:490–500.

Tang Q, Bluestone JA. The Foxp3^{+} regulatory T cell: a jack of all trades, master of regulation. *Nat Immunol*. 2008;9:239–244.

Wing K, Sakaguchi S. Regulatory T cells exert checks and balances on self tolerance and autoimmunity. *Nat Immunol*. 2010;11:7–13.

Mecanismos de Autoimunidade: Conceitos Gerais

Bluestone JA, Bour-Jordan H, Cheng M, Anderson M. T cells in the control of organ-specific autoimmunity. *J Clin Invest*. 2015;125:2250–2260.

Goodnow CC. Multistep pathogenesis of autoimmune disease. *Cell*. 2007;130:25–35.

Rosen A, Casciola-Rosen L. Autoantigens as partners in initiation and propagation of autoimmune rheumatic diseases. *Annu Rev Immunol*. 2016;34:395–420.

Rosenblum MD, Remedios KA, Abbas AK. Mechanisms of human autoimmunity. *J Clin Invest*. 2015;125:2228–2233.

Suurmond J, Diamond B. Autoantibodies in systemic autoimmune diseases: specificity and pathogenicity. *J Clin Invest*. 2015;125:2194–2202.

Mecanismos de Autoimunidade: Fatores Genéticos

Cheng MH, Anderson MS. Monogenic autoimmunity. *Annu Rev Immunol*. 2012;30:393–427.

Gregersen PK, Olsson LM. Recent advances in the genetics of autoimmune disease. *Annu Rev Immunol*. 2009;27:363–391.

Lucas CL, Lenardo MJ. Identifying genetic determinants of autoimmunity and immune dysregulation. *Curr Opin Immunol*. 2015;37:28–33.

Marson A, Housley WJ, Hafler DA. Genetic basis of autoimmunity. *J Clin Invest*. 2015;125:2234–2241.

Pascual V, Chaussabel D, Banchereau J. A genomic approach to human autoimmune diseases. *Annu Rev Immunol*. 2010;28:535–571.

Voight BF, Cotsapas C. Human genetics offers an emerging picture of common pathways and mechanisms in autoimmunity. *Curr Opin Immunol*. 2012;24:552–557.

Zenewicz LA, Abraham C, Flavell RA, Cho JH. Unraveling the genetics of autoimmunity. *Cell*. 2010;140:791–797.

Mecanismos de Autoimunidade: Fatores Ambientais

Belkaid Y, Hand TW. Role of the microbiota in immunity and inflammation. *Cell*. 2014;157:121–141.

Chervonsky AV. Influence of microbial environment on autoimmunity. *Nat Immunol*. 2010;11:28–35.

Fourneau JM, Bach JM, van Endert PM, Bach JF. The elusive case for a role of mimicry in autoimmune diseases. *Mol Immunol*. 2004;40:1095–1102.

Palm NW, de Zoete MR, Flavell RA. Immune-microbiota interactions in health and disease. *Clin Immunol*. 2015;159:122–127.

CAPÍTULO 16

Imunidade aos Microrganismos

VISÃO GERAL DAS RESPOSTAS IMUNES AOS MICRORGANISMOS

IMUNIDADE A BACTÉRIAS EXTRACELULARES
- Imunidade Inata a Bactérias Extracelulares
- Imunidade Adaptativa a Bactérias Extracelulares
- Efeitos Lesivos das Respostas Imunes a Bactérias Extracelulares
- Imunoevasão por Bactérias Extracelulares

IMUNIDADE A BACTÉRIAS INTRACELULARES
- Imunidade Inata a Bactérias Intracelulares
- Imunidade Adaptativa a Bactérias Intracelulares
- Imunoevasão por Bactérias Intracelulares

IMUNIDADE AOS FUNGOS
- Imunidade Inata e Adaptativa aos Fungos

IMUNIDADE AOS VÍRUS
- Imunidade Inata aos Vírus
- Imunidade Adaptativa aos Vírus
- Imunoevasão por Vírus

IMUNIDADE AOS PARASITAS
- Imunidade Inata aos Parasitas
- Imunidade Adaptativa aos Parasitas
- Imunoevasão por Parasitas

ESTRATÉGIAS PARA O DESENVOLVIMENTO DE VACINAS
- Vacinas Bacterianas e Virais Atenuadas e Inativadas
- Vacinas de Antígenos Purificados (Subunidades)

Vacinas de Antígenos Sintéticos
Vacinas Virais Vivas Envolvendo Vírus Recombinantes
Vacinas de DNA
Adjuvantes e Imunomoduladores
Imunização Passiva

RESUMO

Nos capítulos anteriores, nos referimos à proteção contra infecções como sendo a principal função fisiológica do sistema imune, e discutimos as respostas imunes no contexto das respostas aos microrganismos. No presente capítulo, integraremos essa informação e discutiremos os principais aspectos da imunidade a diferentes tipos de microrganismos patogênicos, bem como os mecanismos usados por esses microrganismos para resistir às defesas imunes.

O desenvolvimento de uma doença infecciosa em um indivíduo envolve interações complexas entre o microrganismos e o hospedeiro. Os eventos-chave durante a infecção incluem a entrada do microrganismos, invasão e colonização de tecidos do hospedeiro, evasão da imunidade do hospedeiro, e lesão tecidual ou comprometimento funcional. Os microrganismos produzem doença ao destruírem as células do hospedeiro que infectam ou liberarem toxinas capazes de causar dano tecidual de desorganização funcional em células e tecidos, próximos ou distantes, que não foram infectados. Além disso, os microrganismos frequentemente causam doença por estimularem respostas imunes que lesam tanto os tecidos infectados como os tecidos normais. Muitas características dos microrganismos determinam sua virulência, e numerosos mecanismos distintos contribuem para a patogênese das doenças infecciosas. O tópico sobre patogênese microbiana foge ao escopo deste livro, e a nossa discussão enfocará as respostas imunes do hospedeiro aos microrganismos patogênicos.

Visão Geral das Respostas Imunes aos Microrganismos

Embora as reações antimicrobianas de defesa do hospedeiro sejam numerosas e variadas, existem diversos aspectos gerais importantes da imunidade aos microrganismos.

A defesa contra os microrganismos é mediada pelos mecanismos efetores da imunidade inata e adaptativa (Fig. 16.1). O sistema imune inato fornece a defesa inicial, enquanto o sistema imune adaptativo fornece uma resposta mais sustentada e forte. Muitos microrganismos patogênicos evoluíram para resistir à imunidade inata, e a proteção contra essas infecções é criticamente dependente das respostas imunes adaptativas. Nas respostas adaptativas, são gerados grandes números de células efetoras e moléculas de anticorpo que atuam eliminando os microrganismos, além das células de memória que protegem o indivíduo contra infecções repetidas.

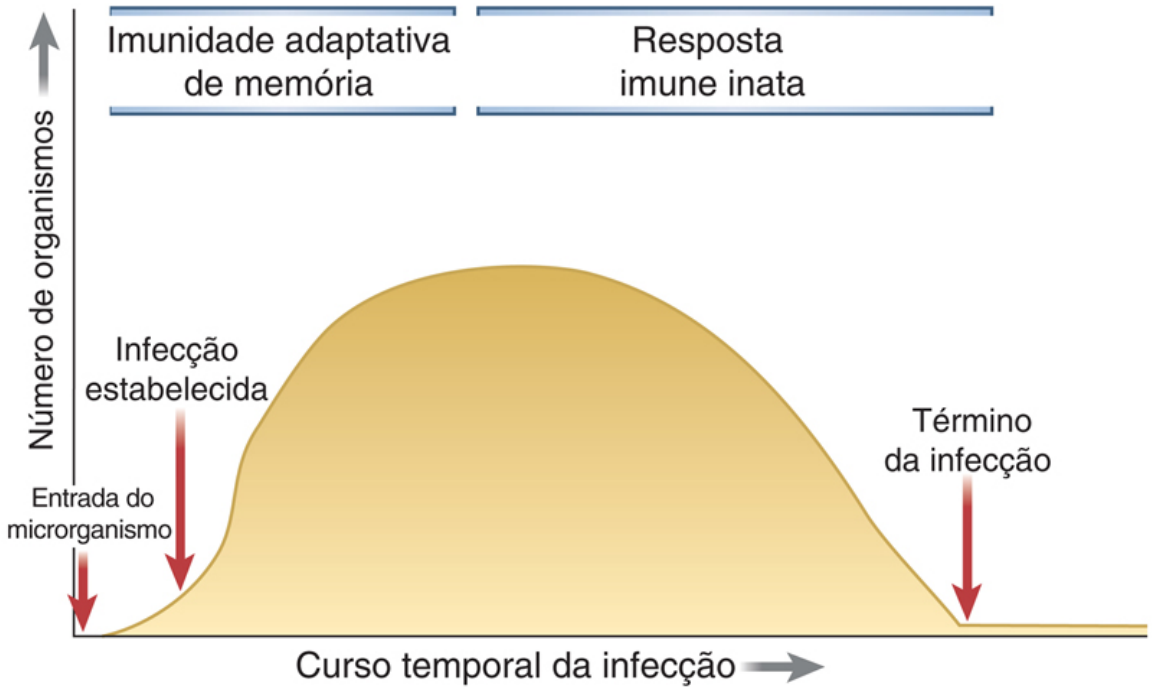


FIGURA 16.1 Controle da infecção pela imunidade inata e adaptativa.
Na infecção por microrganismos patogênicos, a resposta inata inicial pode retardar a infecção, mas muitas vezes não erradica o microrganismo. As respostas adaptativas subsequentes eliminam o microrganismo e deixam células de memória que conferem proteção a partir de infecção repetida pelo mesmo microrganismo.

O sistema imune responde de maneira especializada e diferenciada aos diversos tipos de microrganismos, para combater mais efetivamente esses agentes infecciosos. Diferentes microrganismos requerem mecanismos distintos de eliminação, e o sistema imune adaptativo evoluiu para responder de forma ótima a uma vasta diversidade de microrganismos. A geração de diferentes subpopulações de células T $CD4^+$ efetoras e a produção de diferentes isotipos de anticorpos são excelentes exemplos de especialização da imunidade adaptativa. Ambos foram descritos em capítulos anteriores. No presente capítulo, discutiremos sua importância na defesa contra diferentes tipos de microrganismos.

A sobrevida e a patogenicidade dos microrganismos em um hospedeiro são criticamente influenciadas pela habilidade desses microrganismos de evadir ou resistir aos mecanismos efetores de imunidade. Conforme veremos adiante, neste mesmo capítulo, os microrganismos desenvolveram vários mecanismos de sobrevivência em face das poderosas defesas imunológicas. Os microrganismos infecciosos e o sistema imune coevoluíram e estão engajados em uma batalha constante

pela sobrevivência. O equilíbrio entre as respostas imunes do hospedeiro e as estratégias microbianas de resistência à imunidade muitas vezes determina o desfecho das infecções.

Alguns microrganismos estabelecem infecções latentes, ou persistentes, em que a resposta imune controla, mas não elimina o microrganismo. A latência é uma característica das infecções causadas por diversos vírus, especialmente os vírus contendo DNA pertencentes às famílias do herpesvírus e poxvírus, bem como algumas bactérias intracelulares. Nas infecções virais latentes, o DNA viral pode ser integrado ao DNA das células infectadas, porém nenhum vírus infeccioso é produzido. Nas infecções bacterianas persistentes, como a tuberculose, a bactéria pode sobreviver nas vesículas fagocíticas das células infectadas. Em todas essas situações, alguns microrganismos latentes ocasionalmente se tornarão ativados e começarão a se replicar; um sistema imune funcional se faz necessário para matar esses microrganismos. Se o sistema imune do hospedeiro se tornar defeituoso por algum motivo, a infecção com os microrganismos reativados causará problemas clínicos significativos.

Em muitas infecções, a lesão tecidual e a doença podem ser causadas pela resposta do hospedeiro ao microrganismo, em vez do próprio microrganismo em si. A imunidade é necessária para a sobrevivência do hospedeiro, mas também tem o potencial de causar lesão nesse mesmo hospedeiro.

Defeitos herdados ou adquiridos na imunidade inata e adaptativa são causas importantes de suscetibilidade a infecções. As causas adquiridas comuns de imunodeficiência incluem a infecção pelo HIV e a imunossupressão intencional por fármacos usados no tratamento de doenças inflamatórias e autoimunes, ou na prevenção à rejeição de transplantes. Apesar de menos comum, há um grande número de diferentes síndromes de imunodeficiência hereditárias cuja principal consequência clínica é o aumento de infecções. Além disso, defeitos sutis ou pouco definidos nas defesas do hospedeiro podem estar por trás de muitas infecções comuns. Descreveremos as imunodeficiências em detalhes no Capítulo 21.

A análise das respostas imunes é um ensaio clínico valioso para avaliação das infecções. O teste mais útil é a medida de anticorpos séricos específicos para microrganismos particulares. Isso é decisivo para a detecção de infecções em que o microrganismo não pode ser cultivado ou está presente em tecidos não facilmente acessíveis, como os vírus da hepatite no fígado. A presença de anticorpos imunoglobulina M (IgM) é indicativa de infecção recente, enquanto a presença apenas de IgG sugere

infecção antiga. Outros testes incluem ensaios para respostas de célula T, como os testes cutâneos para tuberculose e teste de liberação de citocina (p. ex.: interferon-γ [IFN-γ]) subsequente à ativação de células sanguíneas periféricas com antígenos microbianos (também usados para detectar infecção por *Mycobacterium tuberculosis*).

Neste capítulo, iremos considerar os principais aspectos da imunidade a cinco categorias principais de microrganismos patogênicos: bactérias extracelulares, bactérias intracelulares, fungos, vírus e protozoários, bem como parasitas multicelulares (Tabela 16.1; Tabela 16.4). Essa separação fornece um contexto valioso para a discussão da imunidade. Usamos os termos "bactéria extracelular" e "bactéria intracelular" para nos referirmos onde os microrganismos sobrevivem e se replicam, contudo mesmo as bactérias extracelulares são captadas para o interior de fagócitos, onde então são destruídas. A discussão sobre as respostas imunes a esses microrganismos ilustra a diversidade da imunidade antimicrobiana e a importância fisiológica das funções efetoras dos linfócitos discutidas nos capítulos anteriores.

Tabela 16.1

Exemplos de Microrganismos Patogênicos

Microrganismo	Exemplos de Doenças Humanas	Mecanismos de Patogenicidade
Bactérias Extracelulares		
Staphylococcus aureus	Infecções cutâneas e de tecidos moles, abscesso pulmonar Sistêmica: síndrome do choque tóxico Intoxicação alimentar	Infecções cutâneas: inflamação aguda induzida por toxinas; morte celular causada por toxinas formadoras de poros Sistêmica: produção de citocinas induzida por toxina ("superantígeno") por células T, causando necrose, choque, diarreia
Streptococcus pyogenes (grupo A)	Faringite Infecções cutâneas: impetigo, erisipelas, celulite Sistêmica: febre escarlate	Inflamação aguda induzida por várias toxinas (p. ex.: estreptolisina O danifica as membranas celulares)
Streptococcus pyogenes (pneumococos)	Pneumonia, meningite	Inflamação aguda induzida por constituintes da parede celular; a pneumolisina é similar à estreptolisina O
Escherichia coli	Infecções do trato urinário, gastrenterite, choque séptico	Toxinas induzem secreção de água e cloreto pelo epitélio intestinal; a endotoxina (LPS) estimula a secreção de citocinas por macrófagos
Vibrio cholerae	Diarreia (cólera)	Toxina colérica ADP-ribosila a subunidade da proteína G, levando ao aumento de AMP cíclico nas células epiteliais intestinais, resultando em secreção de cloreto e perda de água
Clostridium tetani	Tétano	Toxina tetânica se liga à placa motora terminal nas junções neuromusculares e causa contração muscular irreversível
Corynebacterium diphtheriae	Difteria	Toxina diftérica ADP-ribosila o fator de elongação-2 e inibe a síntese proteica
Bactérias Intracelulares Facultativas		

Microrganismo	Exemplos de Doenças Humanas	Mecanismos de Patogenicidade
Mycobacterium tuberculosis	Tuberculose	Ativação de macrófagos resultando em inflamação granulomatosa e destruição tecidual
Salmonella typhi	Tifo	Enterocolite
Neisseria meningitidis (meningococos)	Meningite	Inflamação aguda e doença sistêmica causada por toxina potente
Listeria monocytogenes	Listeriose	Listeriolisina danifica as membranas celulares
Legionella pneumophila	Doença dos legionários	Citotoxina lisa células e causa lesão pulmonar e inflamação
Bactérias Intracelulares Obrigatórias		
Mycobacterium leprae	Lepra	Lesões destrutivas ou granulomatosas associadas a graus variáveis de respostas imunes celulares
Chlamydia	Infecções urogenitais e oculares	Inflamação aguda
Rickettsia	Tifo, outras doenças	Infecção e disfunção endotelial
Fungos Extracelulares		
Candida albicans	Candidíase	Inflamação aguda; liga proteínas do complemento
Aspergillus fumigatus	Aspergilose	Invasão e trombose de vasos sanguíneos causando necrose isquêmica e lesão celular
Histoplasma capsulatum	Histoplasmose	Infecção pulmonar causa inflamação granulomatosa
Pneumocystis jiroveci	Pneumonia	Comprometimento da remoção pelo macrófago no contexto de comprometimento da imunidade mediada pela célula T, levando à inflamação alveolar
Cryptococcus neoformans	Criptococose	Múltiplos fatores de virulência
Vírus		
Pólio	Poliomielite	Inibe a síntese proteica pela célula hospedeira (tropismo por motoneurônios no corno anterior da medula espinal)
Influenza	Pneumonia	Inibe a síntese proteica pela célula hospedeira (tropismo pelo epitélio ciliado)

Microrganismo	Exemplos de Doenças Humanas	Mecanismos de Patogenicidade
Raiva	Encefalite	Inibe a síntese proteica na célula hospedeira (tropismo para nervos periféricos)
Herpes simples	Várias infecções de herpes (cutânea, sistêmica)	Inibe a síntese proteica na célula hospedeira; comprometimento funcional de células imunes
Hepatite B	Hepatite viral	Resposta de CTL do hospedeiro aos hepatócitos infectados
Vírus Epstein-Barr	Mononucleose infecciosa; proliferação de célula B, linfomas	Infecção aguda: lise celular (tropismo por linfócitos B) Infecção latente: estimula a proliferação da célula B
HIV	Aids	Múltiplos: *killing* de células T $CD4^+$, comprometimento funcional de células imunes (Capítulo 20)

São listados exemplos de microrganismos patogênicos de diferentes classes, com breves resumos dos mecanismos comprovados ou postulados de lesão tecidual e doença. As bactérias intracelulares facultativas podem viver dentro ou fora das células, enquanto os organismos intracelulares obrigatórios podem viver e se replicar apenas no interior das células. Exemplos de parasitas são listados na Tabela 16.4.

ADP, adenosina difosfato; *AIDS*, síndrome da imunodeficiência adquirida; *AMP*, adenosina monofosfato; *CTL*, linfócitos T citotóxico; *HIV*, vírus da imunodeficiência humana; *LPS*, lipopolissacarídeo.

Esta tabela foi compilada com assistência da Dra. Arlene Sharpe, Department of Pathology, Harvard Medical School and Brigham and Women's Hospital, Boston, Massachusetts.

Imunidade a Bactérias Extracelulares

As bactérias extracelulares são capazes de se replicar fora das células hospedeiras, por exemplo, no sangue e nos tecidos conectivos, bem como nos espaços teciduais, como lúmens das vias aéreas e do trato gastrintestinal. Muitas espécies diferentes de bactérias extracelulares são patogênicas, e a doença é causada por meio de dois mecanismos principais. Primeiro, essas bactérias induzem inflamação que resulta em destruição tecidual no sítio de infecção. Em segundo lugar, as bactérias produzem toxinas que produzem diversos efeitos patológicos. Tradicionalmente, as toxinas são classificadas como endotoxinas, que são componentes das paredes celulares bacterianas, e exotoxinas, que são secretadas pelas bactérias. No entanto, essas distinções não são absolutas, e a única toxina comumente chamada endotoxina é o lipopolissacarídeo (LPS) de bactérias Gram-negativas. O LPS foi mencionado no Capítulo 4, como um ligante do TLR4 e potente ativador de macrófagos, células dendríticas e células endoteliais. Muitas toxinas são citotóxicas e outras causam doença por vários mecanismos. Exemplificando, a toxina diftérica bloqueia a síntese proteica nas células infectadas; a toxina colérica interfere no transporte de íons e água; a toxina tetânica inibe a transmissão neuromuscular; e a toxina do antraz interrompe diversas vias de sinalização bioquímica importantes nas células infectadas. Outras toxinas interferem nas funções celulares normais sem matar as células, enquanto ainda outras estimulam a produção de citocinas causadoras de doença.

Imunidade Inata a Bactérias Extracelulares

Os principais mecanismos de imunidade inata a bactérias extracelulares são a ativação do complemento, a fagocitose e a resposta inflamatória.

- ***Ativação do complemento.*** Os peptidoglicanos presentes nas paredes celulares de bactérias Gram-positivas e o LPS encontrado em bactérias Gram-negativas ativam o complemento pela via alternativa (Capítulo 13). As bactérias que expressam manose em sua superfície podem se ligar à lectina ligante de manose, a qual ativa o complemento pela via da lectina. Um resultado da ativação do complemento é a opsonização e a aumentada fagocitose das bactérias. Somando-se a isso, o complexo de ataque à membrana gerado pela ativação do complemento lisa as bactérias, em especial

as espécies de *Neisseria* que são particularmente suscetíveis à lise devido a suas finas paredes celulares; e os subprodutos do complemento estimulam respostas inflamatórias via recrutamento e ativação de leucócitos.

- ***Ativação de fagócitos e inflamação.*** Os fagócitos (neutrófilos e macrófagos) usam receptores de superfície, incluindo receptores de manose e receptores *scavenger*, para reconhecer bactérias extracelulares, e receptores Fc e de complemento para reconhecer bactérias opsonizadas com anticorpos e proteínas do complemento, respectivamente. Os produtos microbianos ativam receptores do tipo *Toll* (TLRs, do inglês, *Toll-like receptors*), além de diversos sensores presentes em fagócitos e outras células. Alguns destes receptores atuam principalmente promovendo a fagocitose dos microrganismos (p. ex.: receptores de manose, receptores *scavenger*); outros estimulam as atividades microbicidas dos fagócitos (principalmente TLRs); e ainda outros promovem tanto fagocitose como ativação de fagócitos (receptores Fc e do complemento) (Capítulo 4). Em adição, as células dendríticas e os fagócitos ativados pelos microrganismos secretam citocinas que induzem infiltração de leucócitos em sítios de infecção (inflamação). Os leucócitos recrutados ingerem e destroem as bactérias. A maioria das bactérias extracelulares são suscetíveis ao *killing* pelos fagócitos, uma vez que os microrganismos não se adaptaram à sobrevivência no interior dessas células.
- As células linfoides inatas (ILCs, do inglês, *innate lymphoid cells*) também podem atuar na defesa inicial contra estes microrganismos. As ILCs do grupo 3 (ILC3s) podem ser ativadas pelas citocinas produzidas em resposta aos microrganismos e ao dano celular, sendo que as ILCs secretam interleucina-17 (IL-17), IL-22 e GM-CSF. Essas citocinas intensificam a função de barreira epitelial e recrutam neutrófilos para os sítios de infecção extracelular, em especial com bactérias e fungos.

Imunidade Adaptativa a Bactérias Extracelulares

A imunidade humoral constitui uma das principais respostas imunes protetoras contra bactérias extracelulares, e atua bloqueando a infecção, eliminando os microrganismos e neutralizando suas toxinas (Fig. 16.2A). As respostas de anticorpo contra bactérias extracelulares são dirigidas contra os antígenos da parede celular e as toxinas, que podem ser

polissacarídeos ou proteínas. Os polissacarídeos são antígenos T-independentes que induzem respostas de anticorpo sem, contudo, ativar células T. Dessa forma, a imunidade humoral é o principal mecanismo de defesa contra bactérias encapsuladas ricas em polissacarídeos. Para esses microrganismos, incluindo *Streptococcus pneumoniae*, espécies de *Neisseria* e outros, o baço exerce papel importante tanto na produção de anticorpos como na eliminação fagocítica de bactérias opsonizadas. As pessoas que perdem o baço em decorrência de traumatismo ou distúrbios hematológicos correm grande risco de contrair infecções graves causadas por bactérias encapsuladas. Os antígenos proteicos, presentes ou secretados pela maioria das bactérias, induzem anticorpos mais potentes, bem como imunidade mediada por células. Os mecanismos efetores usados pelos anticorpos para combater as infecções incluem neutralização, opsonização e fagocitose, e ativação do complemento pela via clássica (Capítulo 13). A neutralização é mediada pelos isotipos de alta afinidade IgG, IgM e IgA, com este último atuando principalmente nos lúmens de órgãos revestidos por mucosa. A opsonização é mediada pelas subclasses IgG1 e IgG3 da IgG, enquanto a ativação do complemento é iniciada pela IgM, IgG1 e IgG3.

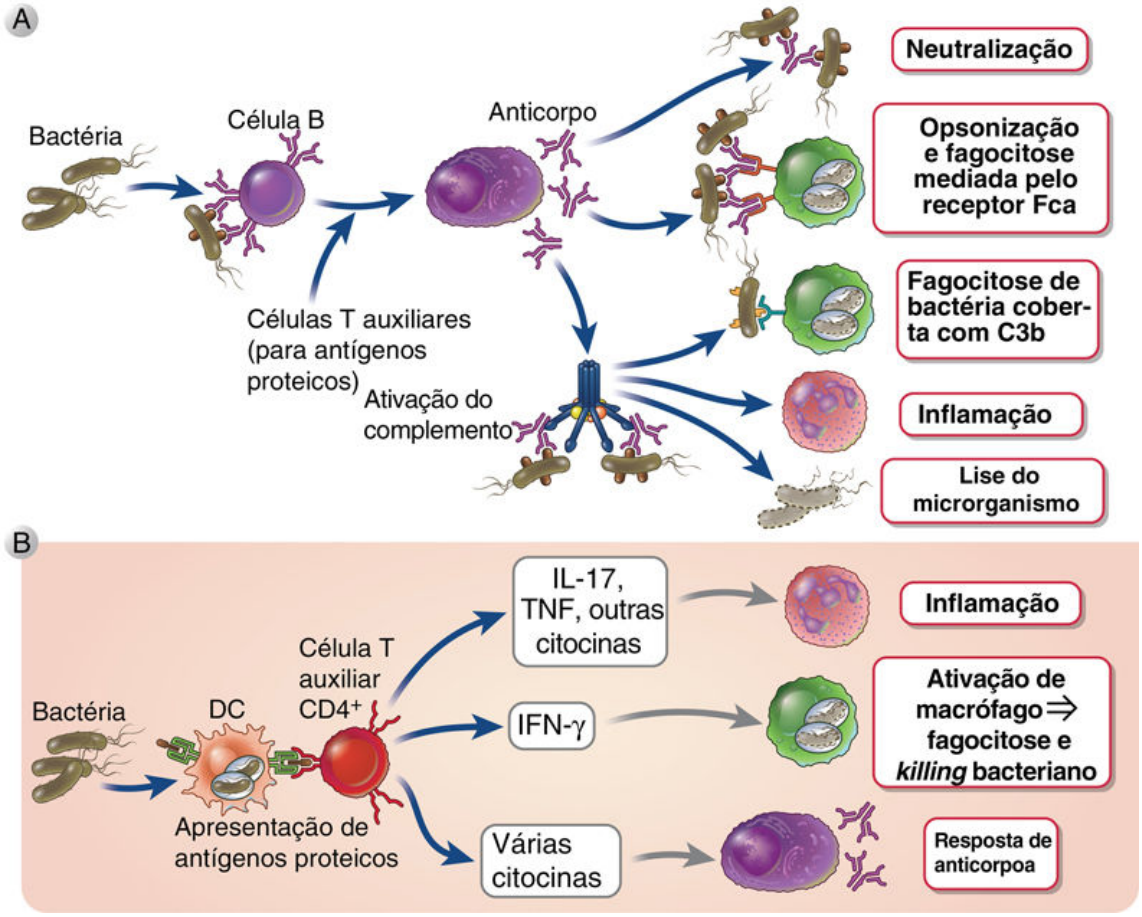


FIGURA 16.2 Respostas imunes adaptativas a microrganismos extracelulares.
As respostas imunes adaptativas a microrganismos extracelulares, como bactérias e suas toxinas, consistem na produção de anticorpo (**A**) e na ativação de células T auxiliares $CD4^+$, que atuam via citocinas secretadas (**B**) e ligante de CD40 (não mostrado). Os anticorpos neutralizam e eliminam microrganismos e toxinas por meio de vários mecanismos. As células T auxiliares produzem citocinas que estimulam inflamação, ativação de macrófagos e respostas de célula B. *DC,* célula dendrítica.

Os antígenos proteicos de bactérias extracelulares também ativam células T auxiliares CD4+, as quais produzem citocinas e expressam moléculas de superfície celular que induzem inflamação local, intensificam as atividades fagocítica e microbicida de macrófagos e neutrófilos, e estimulam a produção de anticorpo (Fig. 16.2B). As respostas Th17 induzidas por esses microrganismos recrutam neutrófilos e monócitos, promovendo assim inflamação local em sítios de infecção bacteriana. Pacientes com defeitos genéticos no desenvolvimento de Th17 e aqueles

que produzem autoanticorpos neutralizantes específicos para IL-17 apresentam suscetibilidade aumentada a infecções bacterianas e fúngicas, e desenvolvem múltiplos abscessos cutâneos. Embora algumas bactérias também induzam respostas Th1, e o IFN-γ produzido pelas células Th1 ative os macrófagos para destruírem os microrganismos fagocitados, as respostas Th1 são mais importantes para uma defesa contra bactérias intracelulares.

Efeitos Lesivos das Respostas Imunes a Bactérias Extracelulares

As principais consequências lesivas das respostas do hospedeiro às bactérias extracelulares são inflamação e sepse. As mesmas reações dos neutrófilos e macrófagos que atuam erradicando a infecção também causam dano tecidual pela produção local de espécies reativas do oxigênio e enzimas lisossômicas. Essas reações inflamatórias geralmente são autolimitadas e controladas. As citocinas secretadas pelos leucócitos em resposta aos produtos bacterianos também estimulam a produção de proteínas de fase aguda e acarretam as manifestações sistêmicas da infecção (Capítulo 4). A **sepse** é uma consequência patológica de infecção grave causada por algumas bactérias Gram-negativas e Gram-positivas (bem como alguns fungos), em que microrganismos viáveis ou produtos microbianos estão presentes no sangue. Isso causa distúrbios sistêmicos de perfusão tecidual, coagulação, metabolismo e função orgânica. O choque séptico é a forma mais grave e frequentemente fatal de sepse, caracterizada pelo colapso circulatório (choque) e coagulação intravascular disseminada. A fase inicial da sepse bacteriana é causada pelas citocinas produzidas pelos macrófagos ativados por componentes da parede celular bacteriana, incluindo LPS e peptidoglicanos. Fator de necrose tumoral (TNF, do inglês, *tumor necrosis factor*), IL-6 e IL-1 são as principais citocinas mediadoras da sepse, porém IFN-γ e IL-12 também podem contribuir (Capítulo 4). Essa explosão inicial de grandes quantidades de citocinas por vezes é chamada tempestade de citocinas. Há evidências de que, na sepse induzida por LPS, a ativação da via não canônica do inflamassomo (Capítulo 4) é essencial para o desenvolvimento da doença.

Certas toxinas bacterianas estimulam todas as células T que expressam membros de uma família particular de genes *Vβ* do receptor de célula T (TCR, do inglês, *T cell receptor*). Essas toxinas são chamadas **superantígenos** porque, assim como os antígenos típicos reconhecidos pelas células T, ligam-se aos TCRs e a moléculas do complexo principal de

histocompatibilidade (MHC, do inglês, *major histocompatibility complex*) de classe II (embora não se liguem às fendas de ligação de peptídeo), mas ativam um número muito maior de clones de células T do que aquele induzido pelos antígenos peptídicos convencionais (Fig. 16.3). Sua importância reside em sua habilidade de ativar muitas células T, com subsequente produção de grandes quantidades de citocinas que também podem causar uma síndrome inflamatória sistêmica.

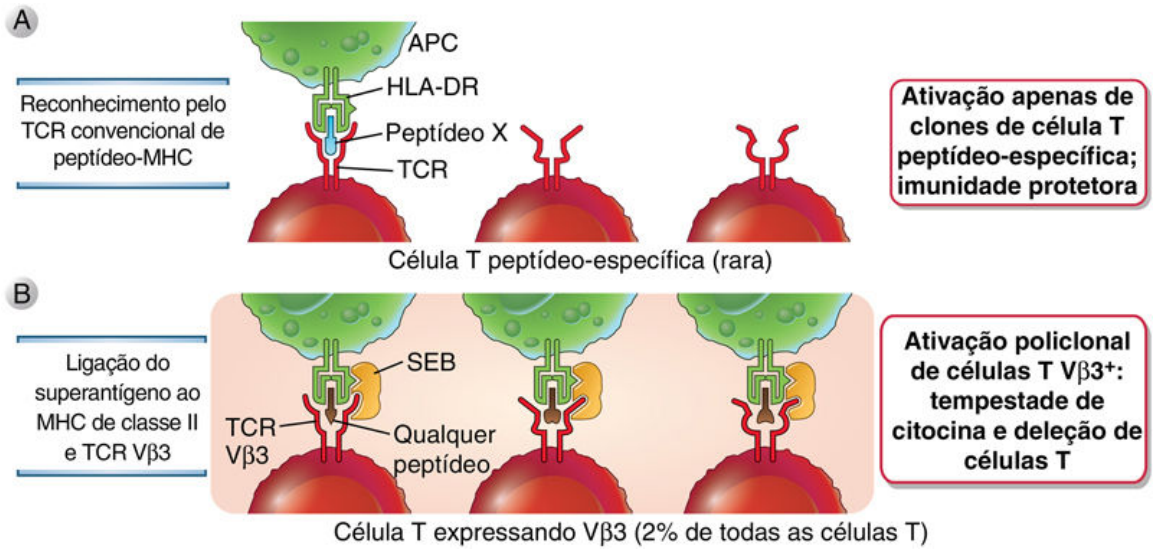


FIGURA 16.3 Ativação policlonal de células T por superantígenos bacterianos.
A, Antígenos de célula T microbianos convencionais, compostos por um peptídeo ligado à fenda de ligação de peptídeo de uma molécula de MHC, são reconhecidos por uma fração muito pequena de células T em um indivíduo qualquer, e apenas essas células T são ativadas para se tornarem células T efetoras que protegem contra o microrganismo. **B,** Em contraste, um superantígeno se liga a moléculas de MHC de classe II fora da fenda de ligação ao peptídeo e, simultaneamente, liga-se à região variável de muitas cadeias de TCR β diferentes, independentemente da especificidade peptídica do TCR. Diferentes superantígenos se ligam a TCRs de diferentes famílias Vβ. Como muitas células T expressam uma cadeia de TCR β de uma família Vβ particular, os superantígenos podem ativar um amplo número de células T. No exemplo mostrado, o superantígeno estafilocócico enterotoxina B (SEB) se liga ao HLA-DR e às regiões V dos TCRs pertencentes à família Vβ3. *APC*, célula apresentadora de antígeno.

Uma complicação tardia da resposta imune humoral à infecção bacteriana pode ser a geração de anticorpos produtores de doença. Os exemplos melhor definidos são duas sequelas raras das infecções estreptocócicas de garganta ou de pele, as quais se manifestam semanas ou até meses após as infecções terem sido controladas. A febre reumática é uma sequela da infecção faringiana por alguns tipos sorológicos de estreptococos β-hemolíticos do grupo A. As infecções levam à produção de anticorpos contra uma proteína da parede celular bacteriana. Alguns desses anticorpos fazem reação cruzada com proteínas miocárdicas e são depositados no coração, onde causam inflamação (cardite). A glomerulonefrite pós-estreptocócica é uma sequela da infecção da pele ou da garganta pelos sorotipos "nefritogênicos" dos estreptococos β-hemolíticos do grupo A. Os anticorpos produzidos contra essas bactérias formam complexos com antígenos bacterianos e esses complexos podem se depositar nos glomérulos renais e causar nefrite.

Imunoevasão por Bactérias Extracelulares

A virulência das bactérias extracelulares foi associada a alguns mecanismos que permitem aos microrganismos resistir à imunidade inata (Tabela 16.2). Bactérias com cápsulas ricas em polissacarídeos resistem à fagocitose e são, portanto, mais virulentas do que as cepas homólogas desprovidas de cápsula. As cápsulas de muitas bactérias Gram-positivas e Gram-negativas contêm resíduos de ácido siálico que inibem a ativação do complemento pela via alternativa.

Tabela 16.2

Mecanismos de Imunoevasão por Bactérias

Mecanismos de Imunoevasão	Exemplos
Bactérias Extracelulares	
Variação antigênica	*Neisseria gonorrhoeae, Escherichia coli, Salmonella typhimurium*
Inibição da ativação do complemento	Muitas bactérias
Resistência à fagocitose	*Pneumococcus, Neisseria meningitidis*
Scavenging de espécies reativas de oxigênio	Bactérias catalase-positivas (incluindo estafilococos e muitas outras)
Bactérias Intracelulares	
Inibição da formação do fagolisossomo	*Mycobacterium tuberculosis, Legionella pneumophila*
Inativação de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio	*Mycobacterium leprae* (glicolipídeo fenólico)
Ruptura da membrana do fagossomo, escape para o citoplasma	*Listeria monocytogenes* (proteína hemolisina)

Um mecanismo usado pelas bactérias para evadir a imunidade humoral é a variação dos antígenos de superfície (Fig. 16.4). Alguns antígenos de superfície de bactérias como gonococos e *Escherichia coli* estão contidos em suas fímbrias. Essas são as estruturas responsáveis pela adesão bacteriana às células hospedeiras. O principal antígeno das fímbrias (ou *pili*) é uma proteína chamada pilina. Os genes de pilina de gonococos sofrem uma extensiva conversão gênica que permite à progênie de um único organismo produzir até 10^6 moléculas de pilina antigenicamente distintas. A habilidade de alterar antígenos ajuda as bactérias a evadirem o ataque por anticorpos pilina-específicos, embora sua principal importância para as bactérias possa ser a seleção de fímbrias mais aderentes às células do hospedeiro, de modo que as bactérias sejam mais virulentas. Alterações na produção de glicosidases levam a alterações químicas no LPS de superfície e em outros polissacarídeos, permitindo, assim, que as bactérias evadam as respostas imunes humorais contra estes antígenos. As bactérias também liberam antígenos de superfície em *blebs* de membrana (alterações semelhantes a um "borbulhamento"), as quais podem desviar os anticorpos afastando-os dos próprios microrganismos.

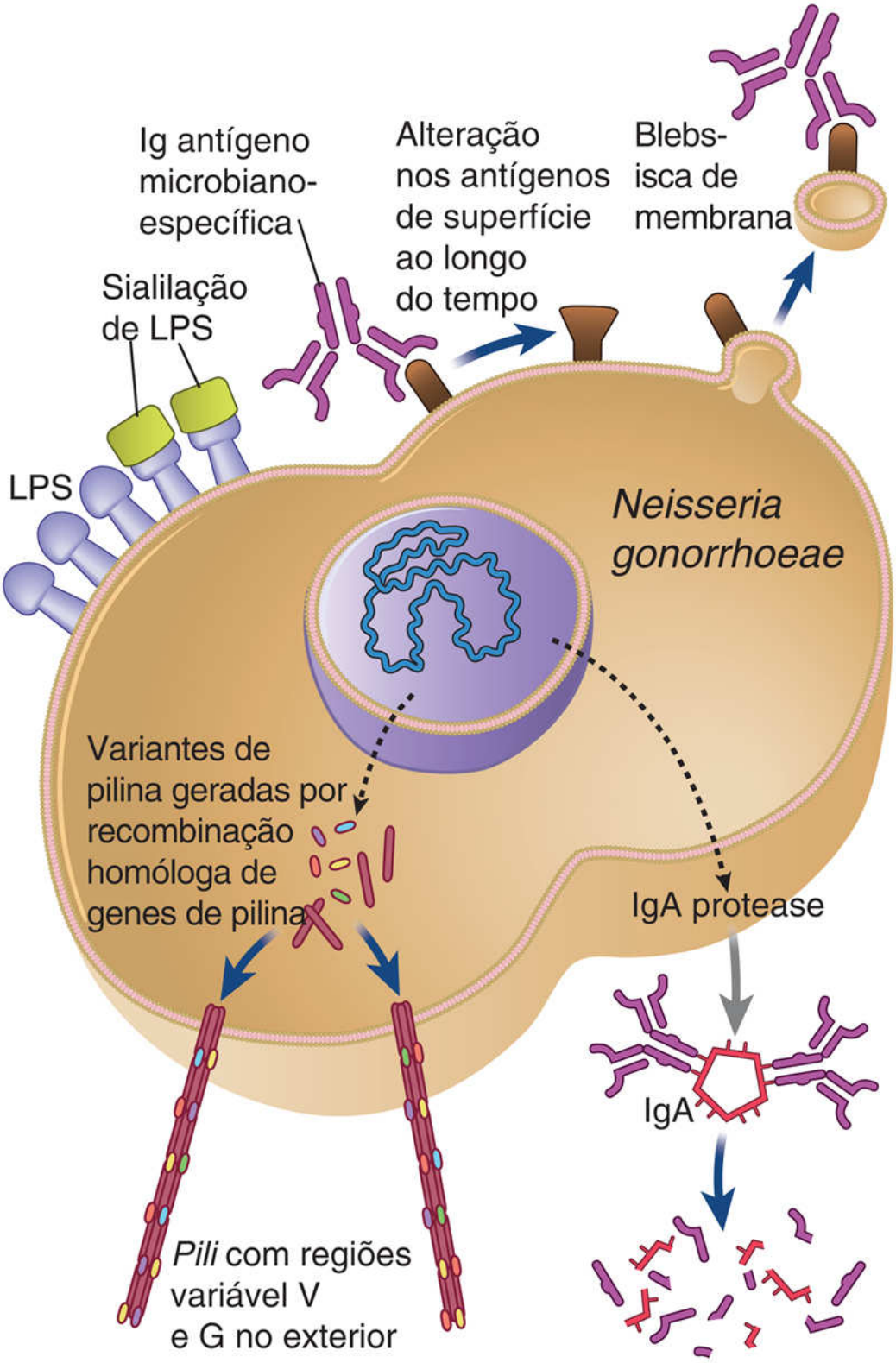


FIGURA 16.4 Mecanismos de imunoevasão em bactérias. A ilustração mostra os múltiplos mecanismos usados por uma espécie bacteriana, *Neisseria*, para evadir a imunidade humoral.

Imunidade a Bactérias Intracelulares

Uma característica das bactérias intracelulares facultativas é sua habilidade de sobreviver e até replicar dentro dos fagócitos. Como esses microrganismos conseguem encontrar um nicho onde se tornam inacessíveis aos anticorpos circulantes, sua eliminação requer os mecanismos de imunidade mediada por células (Fig. 16.5). Conforme discutiremos adiante, ainda nesta seção, em muitas infecções bacterianas intracelulares, a resposta do hospedeiro também causa lesão tecidual.

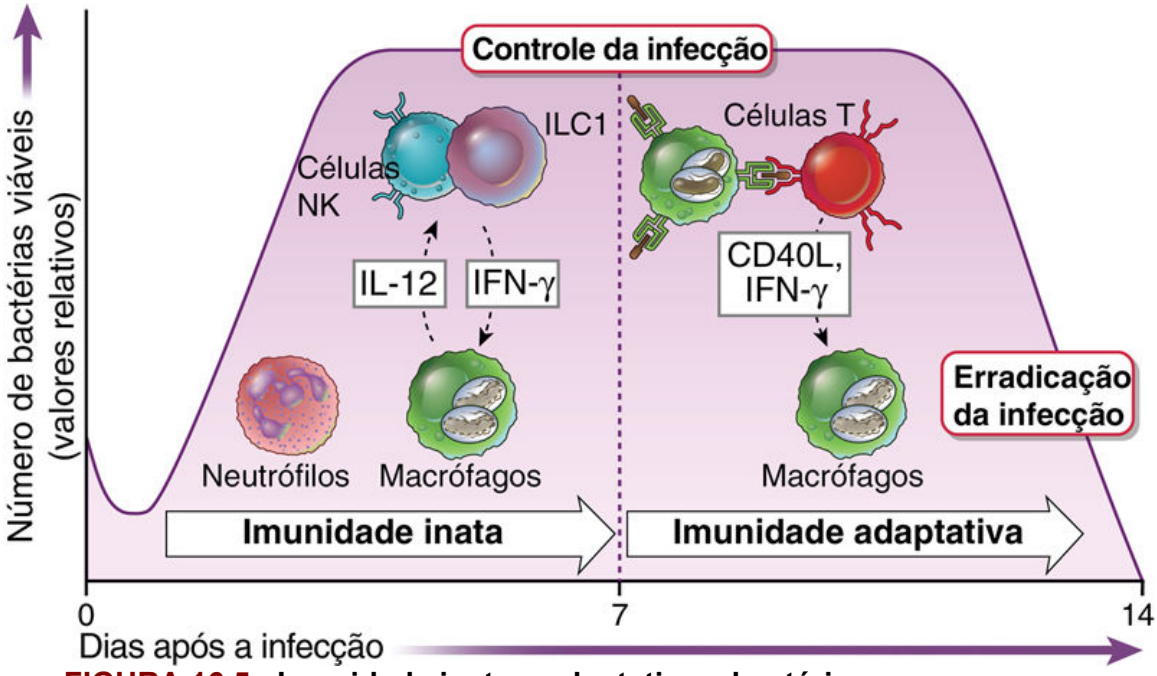


FIGURA 16.5 Imunidade inata e adaptativa a bactérias intracelulares.
A resposta imune inata a bactérias intracelulares consiste em fagócitos e células NK, com as interações entre ambos mediadas por citocinas (IL-12 e IFN-γ). A resposta imune adaptativa típica a esses microrganismos é a imunidade celular, porém a eliminação das bactérias requer imunidade adaptativa. Esses princípios são amplamente fundamentados na análise da infecção por *Listeria monocytogenes* em camundongos; os números de bactérias viáveis mostrados no eixo y são valores relativos de colônias bacterianas que podem ser cultivadas a partir dos tecidos de camundongos infectados.

Imunidade Inata a Bactérias Intracelulares

A resposta imune inata a bactérias intracelulares é mediada principalmente por fagócitos e células* natural killer *(NK). Os fagócitos — inicialmente neutrófilos e depois macrófagos — ingerem e tentam destruir esses microrganismos, porém as bactérias intracelulares patogênicas são resistentes à degradação no interior dos fagócitos. Os produtos dessas bactérias são reconhecidos por TLRs e proteínas citoplasmáticas da família de receptores do tipo NOD (NLR, do inglês, *NOD-like receptor*), resultando na ativação dos fagócitos (Capítulo 4). O DNA bacteriano no citosol estimula respostas de interferon do tipo I através da via STING.

As bactérias intracelulares ativam células NK por meio da indução da expressão de ligantes ativadores de células NK nas células infectadas, e também estimulando a produção por células dendríticas e macrófagos de IL-12 e IL-15, que são citocinas ativadoras de células NK. As células NK produzem IFN-γ que, por sua vez, ativa macrófagos e promove o *killing* das bactérias fagocitadas. Sendo assim, as células NK conferem uma defesa inicial contra esses microrganismos antes do desenvolvimento da imunidade adaptativa. De fato, camundongos com imunodeficiência combinada grave, que não têm células T e B, são capazes de controlar transientemente a infecção causada pela bactéria intracelular *Listeria monocytogenes*, via produção de IFN-γ derivado de células NK. Entretanto, a imunidade inata geralmente falha em erradicar essas infecções, sendo que a erradicação exige imunidade adaptativa mediada por células.

As ILCs do tipo I também defendem contra bactérias intracelulares. Essas células não citotóxicas que expressam T-bet respondem à IL-12, IL-15 e IL-18 produzida por outras células durante a resposta inata a bactérias e, então, secretam IFN-γ e TNF que ativam macrófagos e ajudam a eliminar os patógenos intracelulares. Como as ILCs residem nos tecidos, podem conferir a defesa inicial contra infecçõesnesses locais.

Imunidade Adaptativa a Bactérias Intracelulares

A principal resposta imune protetora contra bactérias intracelulares é o recrutamento e ativação de fagócitos mediados pela célula T (imunidade celular). Indivíduos com imunidade celular deficiente, como pacientes com Aids, são extremamente suscetíveis a infecções com bactérias intracelulares (bem como por fungos e vírus intracelulares). Muitas características importantes da imunidade mediada por células foram estabelecidas na década de 1950, com base em estudos sobre respostas imunes à bactéria intracelular *L. monocytogenes* em camundongos. Essa

forma de imunidade poderia ser adotivamente transferida para animais *naive* com células, mas não com o soro de animais infectados ou imunizados (Fig. 10.3).

Conforme discutimos nos Capítulos 10 e 11, as células T conferem defesa contra infecções por meio de dois tipos de reações: ativação de fagócitos pelas células T $CD4^+$, por meio das ações do ligante de CD40 e do IFN-γ, resultando no *killing* de microrganismos ingeridos que sobrevivem dentro dos fagolisossomos dos fagócitos; destruição de células infectadas por linfócitos T citotóxicos (CTLs) $CD8^+$, eliminando os microrganismos que escapam dos mecanismos de *killing* dos fagócitos. As células T $CD4^+$ se diferenciam em efetores Th1 sob influência de IL-12, produzida por macrófagos e células dendríticas. As células T expressam ligante de CD40 e secretam IFN-γ, e esses dois estímulos ativam macrófagos para a produção de várias substâncias microbicidas, incluindo óxido nítrico, enzimas lisossômicas e espécies reativas do oxigênio. A importância da IL-12 e do IFN-γ na imunidade a bactérias intracelulares foi demonstrada em modelos experimentais e em imunodeficiências congênitas. Exemplificando, indivíduos com mutações hereditárias em receptores para IFN-γ ou IL-12 são altamente suscetíveis a infecções com micobactérias atípicas (Capítulo 21).

Numerosas citocinas, em adição ao IFN-γ, exercem papéis importantes na defesa contra bactérias intracelulares, como *Mycobacterium tuberculosis*. O TNF, produzido por macrófagos ativados e outras células, recrutam e ativam fagócitos mononucleares para combater as micobactérias; é por isso que pacientes com artrite reumatoide e outras doenças imunes tratados com antagonistas de TNF se tornam suscetíveis a infecções por micobactérias.

As bactérias fagocitadas estimulam respostas de células T $CD8^+$ se antígenos bacterianos forem transportados dos fagossomos para o citosol ou se as bactérias escaparem dos fagossomos e entrarem no citoplasma de células infectadas. No citosol, os microrganismos deixam de ser suscetíveis aos mecanismos microbicidas e, para a erradicação da infecção, as células infectadas devem ser eliminadas pelos CTLs. Assim, os efetores da imunidade mediada por células, a saber as células T $CD4^+$ que ativam macrófagos e os CTLs $CD8^+$, atuam de modo cooperativo na defesa contra bactérias intracelulares (Fig. 16.6).

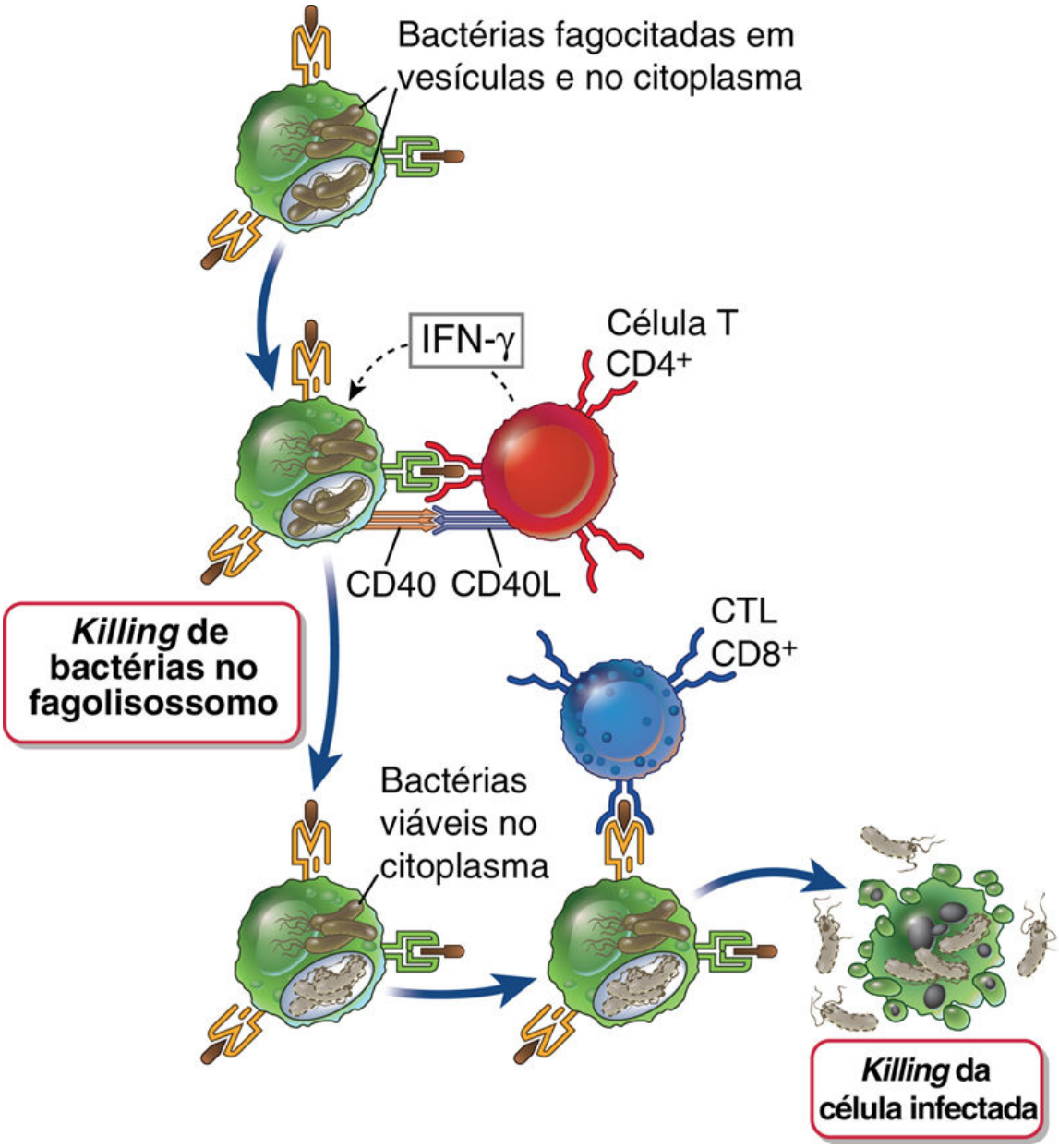


FIGURA 16.6 Cooperação de células T CD4$^+$ e CD8$^+$ na defesa contra microrganismos intracelulares.
Bactérias intracelulares como *L. monocytogenes* são fagocitadas por macrófagos e podem sobreviver em fagossomos e escapar dentro do citoplasma. As células T CD4$^+$ respondem a antígenos peptídicos associados ao MHC de classe II derivados de bactérias intravesiculares. Essas células T produzem IFN-γ e expressam ligante de CD40, que ativa macrófagos para a destruição dos microrganismos no interior dos fagossomos. As células T CD8$^+$ respondem a peptídeos associados à classe I derivados de antígenos citosólicos, e matam células infectadas.

A ativação de macrófagos que ocorre em resposta aos microrganismos intracelulares é capaz de causar lesão tecidual. Essa lesão pode resultar de reações de hipersensibilidade tardia (DTH, do inglês, *delayed-type hypersensitivity*) a antígenos proteicos microbianos (Capítulo 19). Como evoluíram para resistir ao *killing* no interior dos fagócitos, as bactérias intracelulares frequentemente persistem por longos períodos e causam ativação crônica das células T e dos macrófagos, e isso pode resultar na formação de granulomas circundando os microrganismos (Fig. 19.8). A marca histológica da infecção com alguma bactéria intracelular é a inflamação granulomatosa. Esse tipo de reação inflamatória pode servir para localizar e prevenir a disseminação dos microrganismos, mas também está associado a graves comprometimentos funcionais causados por necrose e fibrose tecidual. De fato, os granulomas necrotizantes e a fibrose (formação de cicatriz) que acompanham a inflamação granulomatosa são causas importantes de lesão tecidual e doença clínica na tuberculose. Indivíduos previamente infectados com *M. tuberculosis* mostram reações de DTH ao desafio cutâneo com uma preparação de antígeno bacteriano (PPD, do inglês, *purified protein derivative*). Essa é a base de um teste cutâneo comumente usado para detectar infecção prévia.

As diferenças entre os indivíduos quanto aos padrões de respostas de células T a microrganismos intracelulares são determinantes importantes da progressão da doença e do desfecho clínico. A lepra, causada por *Mycobacterium leprae*, é considerada um exemplo da relação entre o tipo de resposta de célula T e o desfecho da doença em seres humanos. Existem duas formas polares de lepra — as formas lepromatosa e tuberculoide — embora muitos pacientes sejam classificados em grupos intermediários menos definidos. Na lepra lepromatosa, os pacientes exibem altos títulos de anticorpo específico, porém respostas celulares fracas aos antígenos de *M. leprae.* As micobactérias proliferam nos macrófagos e são detectáveis em grandes números. O crescimento bacteriano e a ativação persistente (porém inadequada) dos macrófagos resultam em lesões destrutivas na pele e no tecido subjacente. Em contraste, pacientes com lepra tuberculoide têm imunidade celular forte, porém níveis baixos de anticorpos. Esse padrão de imunidade é refletido nos granulomas que se formam ao redor dos nervos e produzem defeitos em nervos sensoriais periféricos, bem como lesões cutâneas traumáticas secundárias, todavia com menos destruição tecidual e escassez de bactérias nas lesões. Uma possível razão para as diferenças entre essas duas formas da doença causadas pelo mesmo organismo pode ser a existência de diferentes padrões de diferenciação de célula T e produção de citocina nos

indivíduos. Alguns estudos indicam que pacientes com a forma tuberculoide da doença produzem IFN-γ e IL-2 nas lesões (indicativo de ativação de célula Th1), enquanto pacientes com lepra lepromatosa produzem menos IFN-γ e podem exibir imunidade celular fraca e falha em controlar a disseminação bacteriana. O papel das citocinas derivadas de Th1 e de Th2 na determinação do desfecho do infecção foi mais claramente demonstrado na infecção pelo parasita protozoário *Leishmania major* em diferentes linhagens de camundongos consanguíneos (discutido adiante neste capítulo).

Imunoevasão por Bactérias Intracelulares

As bactérias intracelulares desenvolveram várias estratégias para resistir à eliminação pelos fagócitos (Tabela 16.2). Entre estas, estão a inibição da fusão do fagolisossomo ou o escape para o citosol, que permite se esconder dos mecanismos microbicidas dos lisossomos; e também a remoção ou inativação direta das substâncias microbicidas, como as espécies reativas do oxigênio. O desfecho da infecção por esses organismos muitas vezes varia conforme prevaleçam os mecanismos antimicrobianos de macrófagos estimulados por células T ou a resistência microbiana ao *killing*. A resistência à eliminação fagócito-mediada também é a razão pela qual esse tipo de bactéria tende a causar infecções crônicas que podem durar anos, muitas vezes recorrentes após uma cura aparente e difíceis de erradicar.

Imunidade aos Fungos

As infecções fúngicas, também chamadas micoses, são causas importantes de morbidade e mortalidade em seres humanos. Algumas infecções fúngicas são endêmicas e, em geral, são causadas por fungos presentes no ambiente e cujos esporos entram nos seres humanos. Outras infecções fúngicas são ditas oportunísticas, porque os agentes causais provocam doença branda ou não causam doença em indivíduos sadios, mas podem infectar e causar doença grave em indivíduos imunodeficientes. A imunidade comprometida é o fator predisponente mais importante para as infecções fúngicas clinicamente significativas. A deficiência de neutrófilos como resultado de dano ou supressão da medula óssea com frequência está associada a estas infecções. As infecções fúngicas oportunistas também estão associadas à imunodeficiência causada pelo HIV e pela terapia para o câncer disseminado e a rejeição de transplantes. Uma grave infecção fúngica oportunista associada a Aids não tratada é a pneumonia por *Pneumocystis jiroveci*, no entanto muitas outras contribuem para a morbidade e mortalidade causadas pelas imunodeficiências.

Diferentes fungos infectam seres humanos e podem viver nos tecidos extracelulares e no interior dos fagócitos. Portanto, as respostas imunes a esses microrganismos muitas vezes são combinações das respostas a microrganismos extra e intracelulares. Entretanto, menos é conhecido acerca da imunidade antifúngica, do que sobre a imunidade contra bactérias e vírus. A falta de conhecimento é em virtude, parcialmente, da escassez de modelos animais para micoses, e parcialmente pelo fato de essas infecções tipicamente ocorrerem em indivíduos incapazes de montar respostas imunes efetivas.

Imunidade Inata e Adaptativa aos Fungos

Os principais mediadores da imunidade inata contra os fungos são os neutrófilos, macrófagos e ILCs (Fig. 16.7). Os pacientes com neutropenia são extremamente suscetíveis às infecções fúngicas oportunistas. Macrófagos e células dendríticas percebem os organismos fúngicos através dos TLRs e receptores do tipo lectina, chamados **dectinas**, que reconhecem β-glucanas na superfície dos fungos (Capítulo 4). Macrófagos e células dendríticas liberam citocinas que recrutam e ativam neutrófilos diretamente ou via ativação de ILCs residentes teciduais. Os neutrófilos provavelmente liberam substâncias fungicidas, como as espécies reativas

de oxigênio e as enzimas lisossômicas, e fagocitam os fungos para o *killing* intracelular. Cepas virulentas de *Cryptococcus neoformans* inibem a produção de citocinas, como TNF e IL-12, pelos macrófagos e estimulam a produção de IL-10, inibindo assim a ativação dessas células.

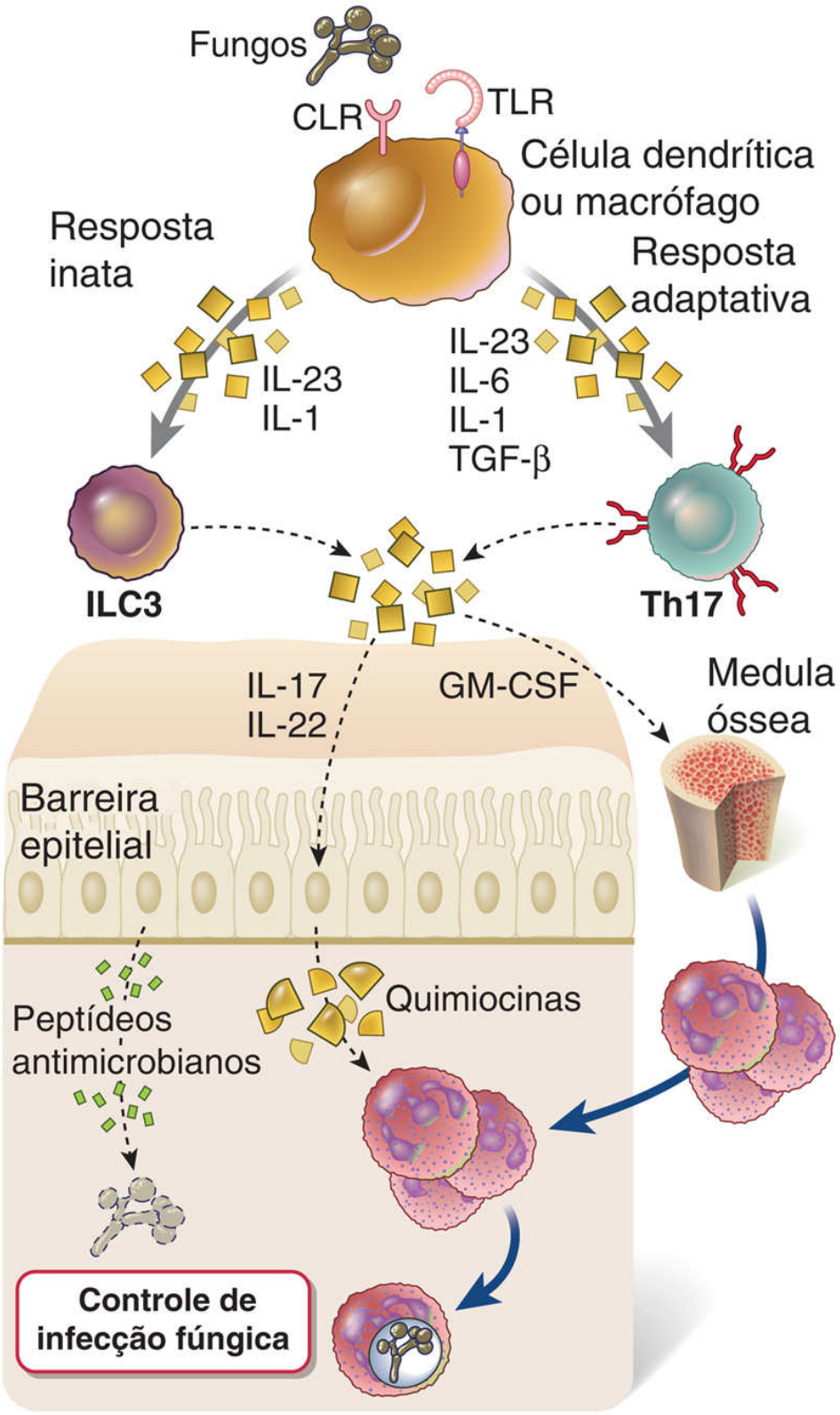


FIGURA 16.7 Papel da imunidade inata e das células Th17 na defesa contra a infecção fúngica.
Células dendríticas e macrófagos (não mostrado) reconhecem as

glucanas fúngicas e liberam citocinas que estimulam células linfoides inatas (ILC3s) residentes nos tecidos a liberarem citocinas, principalmente IL-17, as quais recrutam neutrófilos e induzem produção de peptídeos antimicrobianos que protegem contra a infecção. As citocinas também podem recrutar diretamente neutrófilos. As células dendríticas também estimulam a diferenciação de células T $CD4^+$ antígeno fúngico-específicas *naive* em células Th17 nos linfonodos drenantes, e as células Th17 migram de volta para o sítio de infecção. O GM-CSF produzido pelas ILCs (e, talvez, pelas células Th17) podem contribuir para o recrutamento de neutrófilos. *CLR,* do inglês *C-type lectin receptor* (p. ex.: dectina-1); *TLR,* do inglês, *Toll-like receptor*.

A imunidade mediada por células é o principal mecanismo da imunidade adaptativa contra as infecções por fungos intracelulares. *Histoplasma capsulatum*, um parasita intracelular facultativo que vive em macrófagos, é eliminado pelos mesmos mecanismos celulares que são efetivos contra bactérias intracelulares. As células T $CD4^+$ e $CD8^+$ cooperam para eliminar as formas de levedura de *C. neoformans*, as quais tendem a colonizar os pulmões e o cérebro em hospedeiros imunodeficientes. *P. jiroveci* é outro fungo intracelular causador de graves infecções em indivíduos com imunidade celular defeituosa. Os fungos intracelulares também podem ser controlados em parte por células ILC1 que expressam T-bet, enquanto os fungos extracelulares podem ativar respostas de ILC3.

Muitos fungos extracelulares deflagram fortes respostas Th17, que são dirigidas, em parte, pela ativação de células dendríticas pela ligação de glicanas fúngicas à dectina-1 (Fig. 16.7). As células dendríticas ativadas por meio desse receptor de lectina produzem citocinas Th17-indutoras, como IL-1, IL-6 e IL-23 (Capítulo 10). As células Th17 estimulam inflamação, enquanto os neutrófilos recrutados e monócitos destroem os fungos. Indivíduos com respostas Th17 defeituosas são suscetíveis a infecções mucocutâneas crônicas por *Candida* (Capítulo 21). As respostas Th1 são protetoras nas infecções fúngicas intracelulares, como a histoplasmose, porém essas respostas podem deflagrar uma inflamação granulomatosa que causa importante de lesão tecidual no hospedeiro nessas infecções. Os fungos também deflagram respostas de anticorpo específicas que podem ter valor protetor.

Imunidade aos Vírus

Os vírus são microrganismos intracelulares obrigatórios que usam componentes do ácido nucleico e a maquinaria de síntese proteica do hospedeiro para se replicar. Os vírus tipicamente infectam vários tipos celulares, por endocitose mediada por receptor, após a ligação a moléculas de superfície celular normais. Os vírus podem causar lesão tecidual e doença por diversos mecanismos. A replicação viral interfere na síntese proteica e na função celular normal, leva à lesão e, por fim, à morte da célula infectada. Esse resultado é um tipo de efeito citopático dos vírus, e a infecção é dita lítica porque a célula infectada é lisada. Os vírus podem estimular respostas inflamatórias que causam dano aos tecidos. Os vírus também podem causar infecções latentes (discutidas adiante).

As respostas imunes inata e adaptativa aos vírus são destinadas a bloquear a infecção e a eliminar células infectadas (Fig. 16.8).

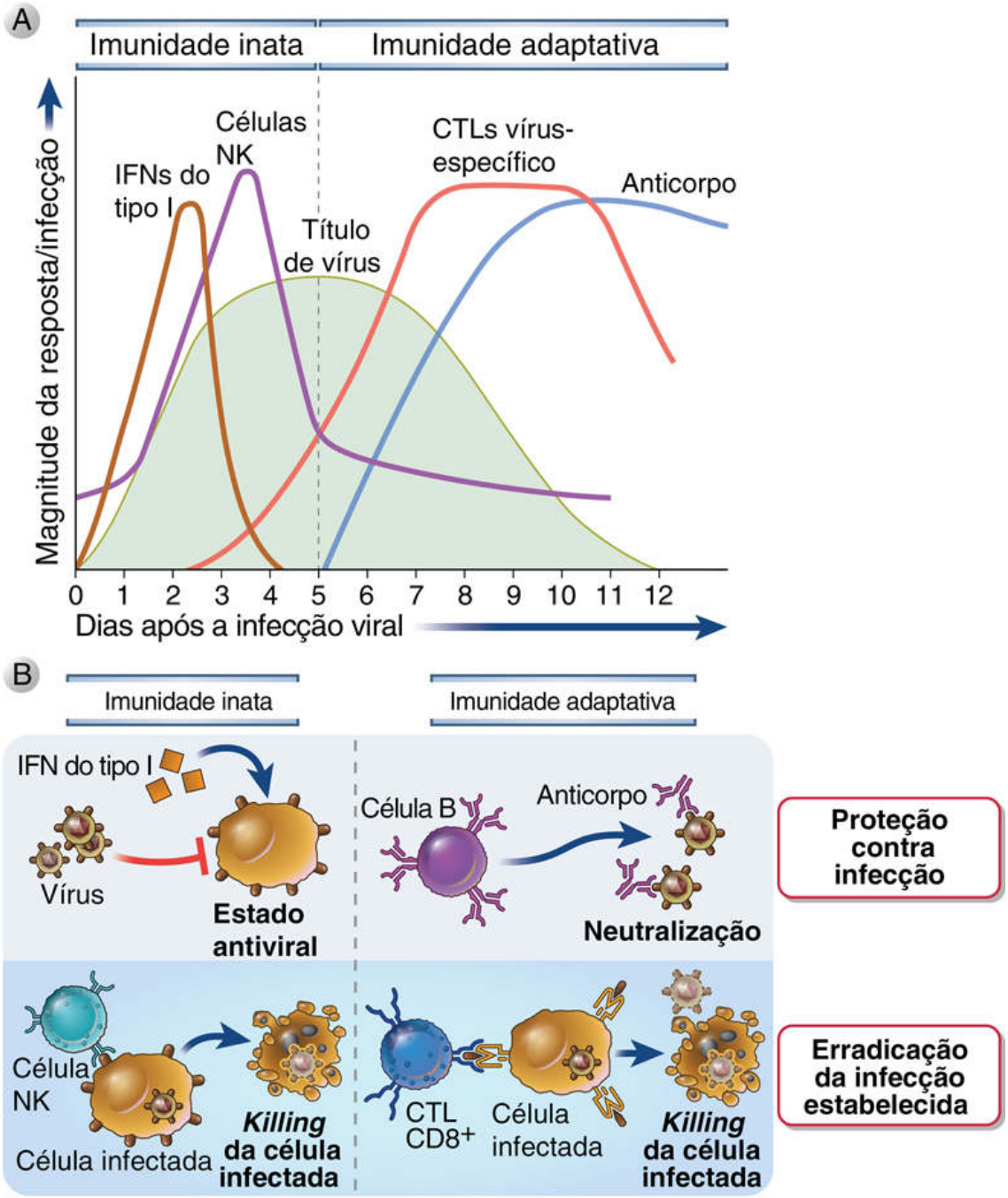


FIGURA 16.8 Respostas imunes inata e adaptativa contra vírus.

A, Cinética das respostas imunes inata e adaptativa a uma infecção viral. **B,** Mecanismos pelos quais a imunidade inata e adaptativa previnem e erradicam as infecções virais. A imunidade inata é mediada por IFN do tipo I, que previne a infecção, e células NK, que eliminam células infectadas. A imunidade adaptativa é mediada por anticorpos e CTLs, que bloqueiam a infecção e matam as células infectadas, respectivamente.

Imunidade Inata aos Vírus

Os principais mecanismos da imunidade inata contra vírus são a inibição da infecção por interferons do tipo I e o* killing *das células infectadas mediado por células NK. A infecção por muitos vírus está associada à produção de interferons (IFNs) do tipo I pelas células infectadas, bem como por células dendríticas, especialmente do tipo plasmacitoide, em resposta aos produtos virais (Capítulo 4). Diversas vias bioquímicas disparam a produção de IFN. Entre essas vias, estão o reconhecimento de RNA e DNA viral por TLRs endossômicos e a ativação de receptores tipo RIG citoplasmáticos, bem como da via STING, pelo RNA e DNA viral, respectivamente. Essas vias convergem na ativação de proteínas quinases que, por sua vez, ativam fatores de transcrição IRF, que estimulam a transcrição do gene de IFN. Os IFNs do tipo I atuam inibindo a replicação viral tanto em células infectadas como em células não infectadas. Os mecanismos pelos quais essas citocinas bloqueiam a replicação viral foram discutidos no Capítulo 4 (Fig. 4.18).

As células NK matam células infectadas por vírus e constituem um importante mecanismo de imunidade contra vírus no início do curso da infecção, antes de as respostas imunes adaptativas terem se desenvolvido. A expressão de MHC de classe I frequentemente é "desligada" nas células infectadas por vírus, como um mecanismo para escapar dos CTLs. Isso permite que as células NK matem as células infectadas, uma vez que a ausência de classe I libera as células NK de um estado normal de inibição (Fig. 4.10). A infecção viral também pode estimular a expressão de ligantes de célula NK nas células infectadas.

Imunidade Adaptativa aos Vírus

A imunidade adaptativa contra infecções virais é mediada por anticorpos, os quais bloqueiam a ligação e a entrada do vírus nas células hospedeiras, e por CTLs, que eliminam a infecção destruindo as células infectadas (Fig. 16.8). Os anticorpos mais efetivos são anticorpos de alta afinidade produzidos nas reações de centros germinativos T-dependentes (Capítulo 12). Os anticorpos são efetivos contra os vírus somente durante o estágio extracelular das vidas desses microrganismos. Os vírus podem ser extracelulares antes de infectarem as células hospedeiras, ou quando são liberados das células infectadas por brotamento viral ou com a morte das células infectadas. Os anticorpos antivirais se ligam ao envelope viral ou

aos antígenos do capsídeo e atuam principalmente como anticorpos neutralizadores, para prevenir a fixação e entrada dos vírus nas células hospedeiras. Assim, os anticorpos previnem tanto a infecção inicial como a disseminação célula à célula. Os anticorpos secretados, especialmente do isotipo IgA, são importantes para neutralizar os vírus juntos aos tratos respiratório e intestinal. A imunização oral contra o poliovírus funciona induzindo a imunidade de mucosa. Além da neutralização, os anticorpos podem opsonizar partículas virais e promover sua eliminação pelos fagócitos. A ativação do complemento também pode participar na imunidade viral mediada por anticorpo, principalmente via promoção de fagocitose e, possivelmente, pela lise direta dos vírus contendo envelopes lipídicos.

A importância da imunidade humoral na defesa contra infecções virais é sustentada pela observação de que a resistência a um vírus particular, induzida por infecção ou vacinação, costuma ser específica para o tipo sorológico (anticorpo-definido) do vírus. Um exemplo é o vírus influenza, em que a exposição a um tipo sorológico não confere resistência aos outros sorotipos do vírus. Os anticorpos neutralizantes bloqueiam a infecção viral das células e a disseminação viral célula à célula, entretanto, depois que os vírus entram e passam a se replicar no meio intracelular, tornam-se inacessíveis aos anticorpos. Portanto, a imunidade humoral induzida por infecção prévia ou vacinação é capaz de conferir proteção aos indivíduos a partir da infecção viral, mas por si só não consegue erradicar uma infecção estabelecida.

A eliminação de vírus residentes nas células é mediada por CTLs que matam as células infectadas. Conforme mencionamos nos capítulos anteriores, a principal função fisiológica dos CTLs é a vigilância contra a infecção viral. A maioria dos CTLs vírus-específicos são células T $CD8^+$ que reconhecem peptídeos virais citosólicos, em geral sintetizados endogenamente, apresentados por moléculas de MHC classe I. Se a célula infectada for uma célula tecidual e não uma célula apresentadora de antígeno (APC, do inglês, *antigen-presenting cell*), como uma célula dendrítica, a célula infectada pode ser fagocitada pela célula dendrítica que processa os antígenos virais e os apresenta às células T $CD8^+$ *naive*. Descrevemos esse processo de apresentação cruzada, ou *crosspriming*, no Capítulo 6 (Fig. 6.17). A diferenciação integral dos CTLs $CD8^+$ muitas vezes requer citocinas produzidas por células auxiliares $CD4^+$ ou coestimuladores expressos em células infectadas (Capítulo 11). Como discutido nos Capítulo 9 e 11, as células T $CD8^+$ sofrem uma intensa proliferação durante a infecção viral, e a maioria das células que

proliferaram são específicas para alguns peptídeos virais. Algumas células T ativadas se diferenciam em CTLs efetores capazes de destruir qualquer célula nucleada infectada. Os efeitos antivirais dos CTLs são devidos principalmente ao *killing* das células infectadas, porém outros mecanismos são a ativação de nucleases nas células infectadas, as quais degradam os genomas virais, e também à secreção de citocinas, como o IFN-γ, que ativa fagócitos e pode ter alguma atividade antiviral.

Muitas linhas de evidência experimentais e clínicas sustentam a importância dos CTLs na defesa contra a infecção viral. A suscetibilidade a essas infecções é aumentada em pacientes e animais deficientes de linfócitos T. Experimentalmente, camundongos podem ser protegidos contra algumas infecções virais por meio da transferência adotiva de CTLs vírus-específicos restritos à classe I. Os vírus desenvolveram numerosas estratégias para escapar ao ataque dos CTLs $CD8^+$. Entre estas, estão o bloqueio do processamento e apresentação de antígenos pela via do MHC de classe I e o desligamento das respostas de célula T $CD8^+$ pela indução do fenômeno de exaustão. Esses mecanismos de evasão são discutidos adiante, neste capítulo.

Nas infecções latentes, o DNA viral persiste nas células hospedeiras, porém o vírus não se replica nem mata as células infectadas. A latência frequentemente é um estado de equilíbrio entre infecção e resposta imune. Os CTLs gerados em resposta ao vírus podem controlar a infecção, mas são incapazes de erradicá-la. Como resultado, os vírus persistem nas células infectadas, às vezes, por toda a vida do indivíduo. Essas infecções latentes são comuns com o vírus Epstein-Barr e vários outros vírus contendo DNA pertencentes à família do herpesvírus. A reativação da infecção está associada à expressão de genes virais responsáveis pelos efeitos citopáticos e pela disseminação do vírus. Esses efeitos citopáticos podem incluir a lise das células infectadas ou a proliferação descontrolada das células. Qualquer deficiência na resposta imune do hospedeiro pode resultar em falha no controle de uma infecção latente reativada.

Em algumas infecções virais, a lesão tecidual pode ser causada por CTLs. Certo grau de imunopatologia acompanha as respostas do hospedeiro a muitas (se não a maioria das) infecções virais. Um modelo experimental de uma doença cuja patologia é primariamente devida à resposta imune do hospedeiro é a infecção pelo vírus da coriomeningite linfocítica (LCMV, do inglês, *lymphocytic choriomeningitis virus*) em camundongos, que induz inflamação das meninges medulares espinais. O LCMV infecta as células meníngeas, mas é não citopático e não lesa diretamente as células infectadas. O vírus estimula o desenvolvimento de

CTLs vírus-específicos que matam as células meníngeas infectadas durante uma tentativa fisiológica de erradicar a infecção. Portanto, a meningite se desenvolve em camundongos normais com sistemas imunes intactos, entretanto os camundongos deficientes em células T não desenvolvem a doença e, em vez disso, se tornam portadores do vírus. Essa observação parece contradizer a situação usual, em que indivíduos imunodeficientes são mais suscetíveis a doenças infecciosas do que os indivíduos normais. Em seres humanos, a infecção pelo vírus da hepatite B apresenta algumas similaridades com a infecção murina pelo LCMV, no sentido de que indivíduos imunodeficientes infectados não desenvolvem a doença e se tornam portadores capazes de transmitir a infecção a indivíduos saudáveis. O fígado de pacientes com hepatite ativa aguda e crônica contém grandes números de células T $CD8^+$, e CTLs restritos ao MHC de classe I específicos para o vírus da hepatite podem ser isolados de amostras de biópsia de fígado e propagados *in vitro*. Esses achados sustentam a perspectiva de que a resposta CTL é a principal causa de lesão tecidual na hepatite viral.

O envolvimento das respostas imunes a infecções virais na produção de doença pode se dar de outros modos. Uma consequência da infecção persistente por alguns vírus, como na hepatite B, é a formação de imunocomplexos circulantes compostos por antígenos virais e anticorpos específicos (Capítulo 19). Esses complexos são depositados em vasos sanguíneos e levam à vasculite sistêmica. Algumas proteínas virais contêm sequências de aminoácidos que também estão presentes em certos autoantígenos. Foi postulado que, devido ao mimetismo molecular, a imunidade antiviral pode levar a respostas imunes contra autoantígenos.

Imunoevasão por Vírus

Os vírus desenvolveram numerosos mecanismos para evadir a imunidade do hospedeiro (Tabela 16.3).

- ***Os vírus podem alterar seus antígenos e, portanto, deixarem de ser alvos das respostas imunes.*** Os antígenos afetados são mais comumente glicoproteínas de superfície reconhecidas por anticorpos, porém os epítopos da célula T também podem sofrer variação. Os principais mecanismos de variação antigênica são as mutações pontuais e o rearranjo dos genomas de RNA (em vírus de RNA), que levam à deriva antigênica e à variação antigênica. Esses processos são de grande importância na disseminação do

vírus influenza. Os dois antígenos principais desse vírus são a hemaglutinina viral trimérica (proteína do espigão viral) e a neuraminidase. Os genomas virais sofrem mutações nos genes codificadores dessas proteínas de superfície, e a variação resultante é chamada **deriva antigênica**. Os genomas de RNA segmentado de várias cepas de vírus influenza que normalmente habitam diferentes espécies de hospedeiro podem se recombinar nas células hospedeiras, e esses vírus recombinados podem diferir de forma bastante drástica das cepas prevalentes (Fig. 16.9). A recombinação de genes virais resulta em alterações significativas na estrutura antigênica, chamadas **variação antigênica**, que cria vírus distintos como o da gripe aviária ou o da gripe suína. Devido à variação antigênica, um vírus pode se tornar resistente à imunidade gerada na população por infecções prévias. As pandemias de influenza ocorridas em 1918, 1957 e 1968 foram devidas às diferentes cepas do vírus, e a pandemia de H1N1 de 2009 foi causada por uma cepa em que as fitas do genoma de RNA foram recombinadas entre cepas endêmicas em porcos, frangos e seres humanos. Variantes virais mais sutis surgem com maior frequência. Existem tantos sorotipos de rinovírus que a vacinação contra o resfriado comum pode não ser uma estratégia preventiva factível. O HIV-1, causador da Aids, também é capaz de uma tremenda variação antigênica devido a uma elevada taxa de erros na transcrição reversa de seu genoma de RNA durante a reprodução viral (Capítulo 21). Nessas situações, a vacinação profilática pode ter de ser dirigida contra proteínas virais invariantes.

- ***Alguns vírus inibem a apresentação de antígenos proteicos citosólicos associada ao MHC de classe I.*** Os vírus produzem várias proteínas que bloqueiam diferentes etapas no processamento, transporte e apresentação do antígeno (Fig. 16.10). A inibição da apresentação antigênica bloqueia a montagem e expressão de moléculas de MHC de classe I e a exibição de peptídeos virais. Como resultado, as células infectadas por esses vírus não podem ser reconhecidas nem mortas por CTLs $CD8^+$. Como já discutido, as células NK são ativadas por células infectadas, especialmente na ausência de moléculas de MCH de classe I. Alguns vírus podem produzir proteínas que atuam como ligantes de receptores de inibição das células NK e, assim, inibem a ativação dessas células.

- ***Alguns vírus produzem moléculas que inibem a resposta imune.*** Os poxvírus codificam moléculas que são secretadas por células infectadas e se ligam a várias citocinas, incluindo IFN-γ, TNF, IL-1, IL-18 e quimiocinas. As proteínas ligantes de citocinas podem atuar como antagonistas competitivos das citocinas. O vírus Epstein-Barr produz uma proteína homóloga à citocina IL-10, que inibe a ativação de macrófagos e células dendríticas, podendo assim suprimir a imunidade mediada por células. Esses exemplos provavelmente representam uma pequena fração de moléculas virais imunossupressoras. A identificação dessas moléculas origina a intrigante possibilidade de que os vírus adquiriram genes codificadores de inibidores endógenos de respostas imunes durante sua passagem pelos hospedeiros humanos e, portanto, evoluíram para infectar e colonizar seres humanos.
- ***Algumas infecções virais crônicas estão associadas à falha das respostas de CTLs, chamada exaustão,*** a qual permite a persistência viral. Estudos sobre infecção crônica com o LCMV em camundongos demonstraram que este tipo de déficit imune pode resultar da estimulação antigênica persistente levando à regulação positiva de receptores inibidores da célula T, como o PD-1 (do inglês, *programmed death 1*; Fig. 11.3). Há evidência de exaustão da célula T $CD8^+$ em infecções virais humanas crônicas, incluindo as infecções por HIV e pelo vírus da hepatite.
- ***Os vírus podem infectar e destruir ou inativar células imunocompetentes.*** O exemplo evidente é o HIV, que sobrevive infectando e eliminando as células T $CD4^+$, principais indutoras das respostas imunes a antígenos proteicos.

Tabela 16.3

Mecanismos de Imunoevasão por Vírus

Mecanismos de Imunoevasão	Exemplos
Variação antigênica	Influenza, rinovírus, HIV
Inibição do processamento antigênico Bloqueio do transportador TAP Remoção de moléculas de classe I do RE	 HSV CMV
Produção de moléculas de MHC "isca" para inibir células NK	Citomegalovírus (murino)
Produção de homólogos de receptor de citocina	Vacínia, poxvírus (IL-1, IFN-γ), citomegalovírus (quimiocina)
Produção de citocina imunossupressora	Epstein-Barr (IL-10)
Infecção e morte ou comprometimento funcional de células imunes	HIV
Inibição da ativação do complemento Recrutamento de fator H Incorporação de CD59 ao envelope viral	 HIV HIV, vacínia, CMV humano
Inibição da imunidade inata Inibição de acesso ao sensor de RNA RIG-I Inibição de PKR (sinalização pelo receptor de IFN)	 Vacínia, HIV HIV, HCV, HSV, pólio

São listados exemplos representativos de diferentes mecanismos usados por vírus para resistir à imunidade do hospedeiro.

CMV, citomegalovírus; *RE*, retículo endoplasmático; *HCV*, vírus da hepatite C; *HIV*,vírus da imunodeficiência humana; *HSV*, vírus do herpes simples; *IFN*, interferon; *IL*, interleucina; *MHC*, complexo principal de histocompatibilidade; *células NK*, células *natural killer*; *TAP*, transportador associado com o processamento antigênico.

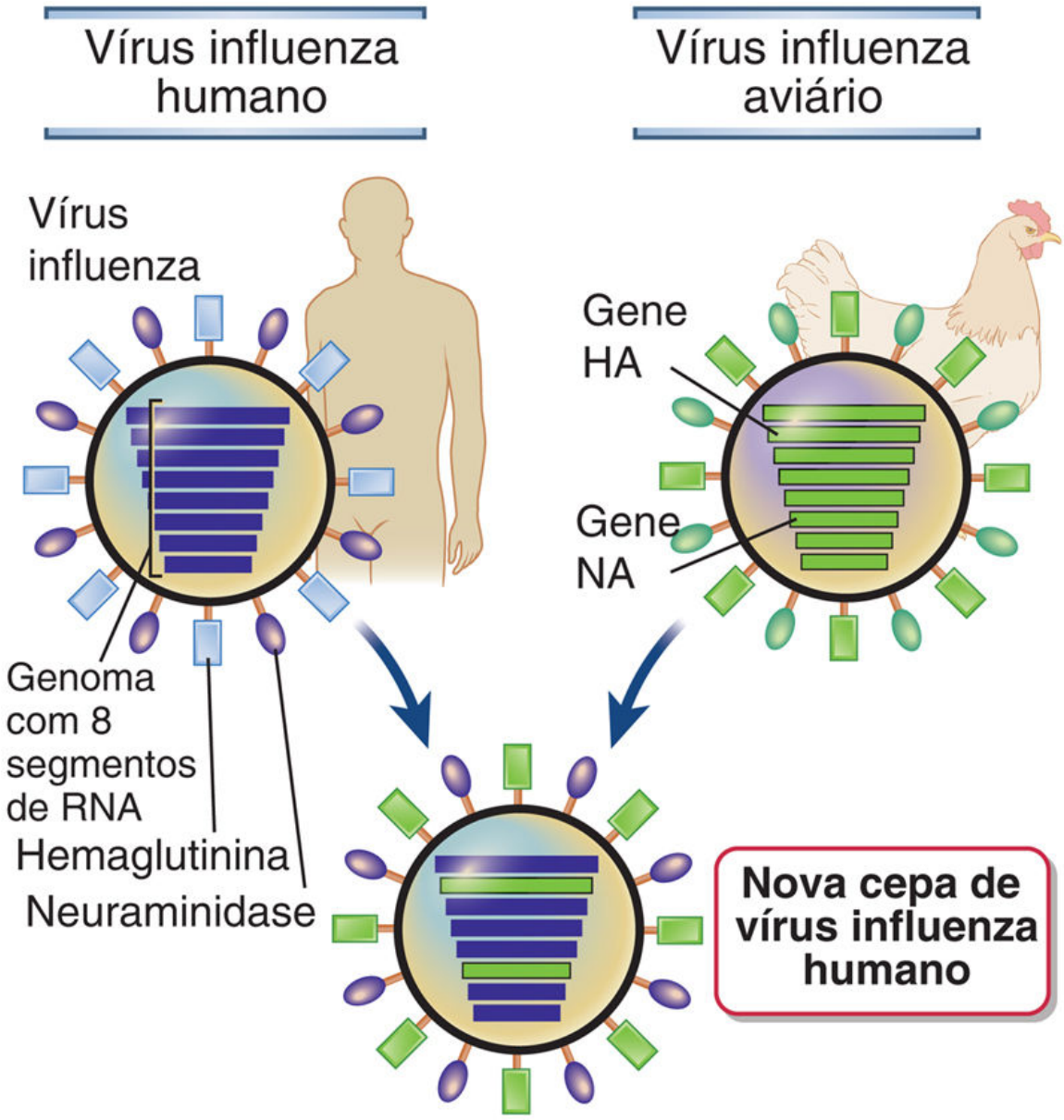


FIGURA 16.9 Geração de novas cepas de vírus influenza por recombinação gênica (variação antigênica).
O genoma do vírus influenza é composto por oito fitas de RNA separadas, as quais permitem recombinação gênica por rearranjo dos segmentos em vários hospedeiros, como um porco (não mostrado), uma ave ou seres humanos, que são simultaneamente infectados por duas cepas distintas. Esses rearranjos gênicos criam novos vírus antigenicamente distintos de seus precursores e, assim, são capazes de evadir a imunodetecção em grandes números de hospedeiros recém-infectados.

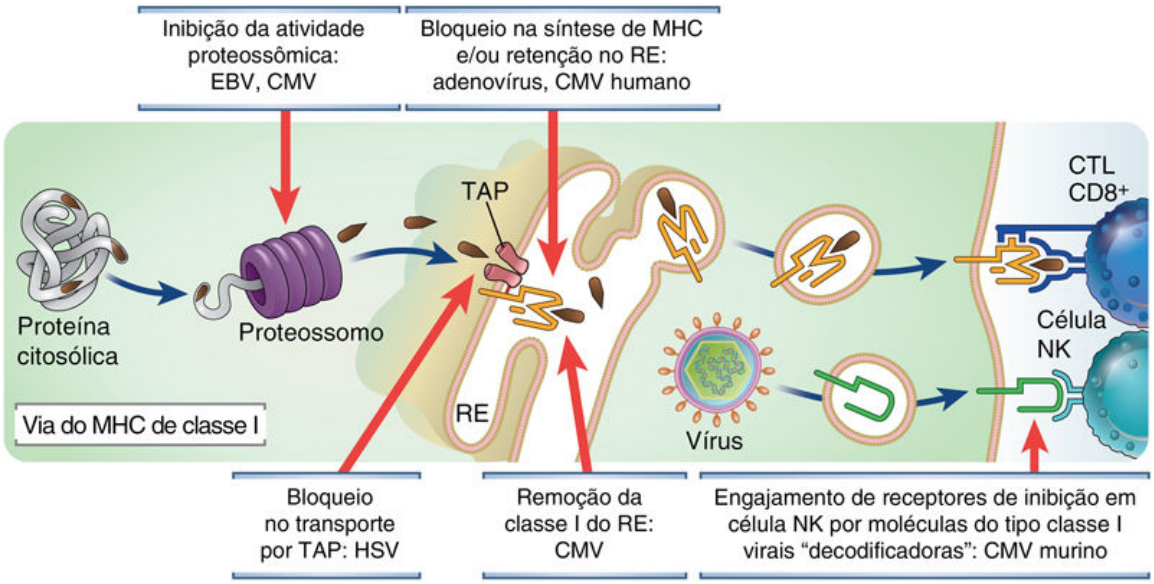


FIGURA 16.10 Mecanismos pelos quais os vírus inibem o processamento e a apresentação antigênica.
A ilustração mostra a via de apresentação do antígeno associado ao MHC de classe I, com exemplos de vírus que bloqueiam diferentes etapas dessa via. Além de interferir no reconhecimento de células T $CD8^+$, alguns vírus produzem moléculas de MHC "isca" que engajam receptores de inibição em células NK. *CMV*, citomegalovírus; *EBV*, vírus Epstein-Barr; *RE*, retículo endoplasmático; *HSV*, vírus herpes simples; *TAP*, transportador associado com o processamento antigênico.

Imunidade aos Parasitas

Os parasitas incluem protozoários unicelulares, vermes multicelulares complexos (helmintos) e ectoparasitas (p. ex.: carrapatos e ácaros). As infecções parasitárias são um importante problema de saúde, particularmente nos países em desenvolvimento. Estima-se que cerca de 30% da população mundial sofre de infestações parasitárias. A cada ano, ocorrem cerca de 200 milhões de casos novos de malária em todo o mundo, e aproximadamente 500 mil mortes. A magnitude desse problema de saúde pública é o principal motivo do grande interesse pela imunidade aos parasitas, bem como pelo desenvolvimento da Imunoparasitologia como um ramo distinto da Imunologia.

A maioria dos parasitas passa por ciclos de vida complexos, parte dos quais ocorre em seres humanos (ou outros vertebrados) e parte em hospedeiros intermediários, como moscas, carrapatos e caracóis. Os seres humanos geralmente são infectados pelas picadas dos hospedeiros intermediários infectados ou a partir do compartilhamento de um hábitat particular com um hospedeiro intermediário. Exemplificando, a malária e a tripanossomíase são transmitidas por picada de insetos, enquanto a esquistossomose é transmitida pela exposição à agua onde residem caracóis infectados. Muitas infecções parasitárias são crônicas, por causa de uma imunidade inata fraca e da habilidade dos parasitas de evadir ou resistir à eliminação pelas respostas imunes adaptativas. Além disso, muitos fármacos antiparasitários não são efetivos no *killing* dos organismos. Indivíduos vivendo em áreas endêmicas requerem quimioterapia recorrente, devido à exposição contínua, e esse tipo de tratamento muitas vezes é impossibilitado pelo custo e por problemas de logística.

Imunidade Inata aos Parasitas

Embora tenha sido demonstrado que diferentes protozoários e helmintos parasitas ativam diferentes mecanismos de imunidade inata, esses organismos frequentemente conseguem sobreviver e se replicar em seus hospedeiros, por estarem bem adaptados para resistir às defesas do hospedeiro. A principal resposta imune inata aos protozoários é a fagocitose, mas muitos desses parasitas são resistentes ao *killing* fagocítico e podem até mesmo se replicar no interior dos macrófagos. Alguns protozoários expressam moléculas de superfície reconhecidas por TLRs e

ativam fagócitos. Espécies de *Plasmodium* (protozoários responsáveis pela malária), *Toxoplasma gondii* (agente causador de toxoplasmose) e espécies de *Cryptosporidium* (uma das principais causas de doença diarreica em pacientes infectados por HIV) expressam, todos, glicolipídeos que podem ativar TLR2 e TLR4. Os eosinófilos contribuem para a resposta inata aos helmintos liberando os conteúdos dos grânulos que são capazes de destruir os tegumentos dos vermes. Os fagócitos também podem atacar parasitas helmintos e secretar substâncias microbicidas para matar organismos. Entretanto, muitos helmintos têm tegumentos espessos que os tornam resistentes aos mecanismos citocidas de neutrófilos e macrófagos, além de serem também muito grandes para serem ingeridos por estes fagócitos. Alguns helmintos podem ativar a via alternativa do complemento, embora (como discutiremos adiante) os parasitas recuperados de hospedeiros infectados parecem ter desenvolvido resistência à lise mediada pelo complemento.

Imunidade Adaptativa aos Parasitas

Protozoários e helmintos distintos variam enormemente quanto às propriedades estruturais e bioquímicas, ciclos de vida e mecanismos patogênicos. Portanto, não surpreende que diferentes parasitas induzam respostas imunes adaptativas distintas (Tabela 16.4). Alguns protozoários patogênicos evoluíram para sobreviver dentro das células hospedeiras, por isso a imunidade protetora contra estes organismos é mediada por mecanismos similares àqueles que eliminam bactérias e vírus intracelulares. Em contraste, metazoários como os helmintos sobrevivem em tecidos extracelulares e sua eliminação muitas vezes depende de tipos especiais de respostas de anticorpo.

Tabela 16.4

Respostas Imunes a Parasitas Causadores de Doença

Parasita	Doença	Principais Mecanismos de Imunidade Protetora
Protozoários		
Espécies de *Plasmodium*	Malária	Anticorpos e CTLs $CD8^+$
Leishmania donovani	Leishmaniose (mucocutânea disseminada)	Células Th1 $CD4^+$ ativam macrófagos para matar parasitas fagocitados
Trypanosoma brucei	Tripanossomíase africana	Anticorpos
Entamoeba histolytica	Amebíase	Anticorpos, fagocitose
Metazoários		
Espécies de *Schistosoma*	Esquistossomose	*Killing* por eosinófilos, macrófagos
Filária (p. ex.: *Wuchereria bancrofti*)	Filariose	Imunidade mediada por células; papel de anticorpos?

São listados exemplos selecionados de parasitas e respostas imunes a esses parasitas.

CTLs, linfócitos T citotóxicos.

O principal mecanismo de defesa contra os protozoários que sobrevivem nos macrófagos é a imunidade celular, particularmente a ativação de macrófagos por citocinas derivadas de células Th1. A infecção de camundongos por *L. major*, um protozoário que sobrevive no interior dos endossomos dos macrófagos, ilustra como a dominância das respostas Th1 ou Th2 determina a resistência ou a suscetibilidade à doença (Fig. 16.11). A resistência à infecção está associada à ativação de células Th1 leishmania-específicas, as quais produzem IFN-γ e, dessa forma, ativam os macrófagos para destruir parasitas intracelulares. Ao contrário, a ativação de células Th2 pelos protozoários resulta em aumentada sobrevivência de parasitas e exacerbação das lesões, porque as citocinas Th2 inibem a ativação clássica dos macrófagos. A maioria das linhagens consanguíneas de camundongos são resistentes à infecção por *L. major*, porém a linhagem murina consanguínea BALB/c e outras linhagens murinas relacionadas são altamente suscetíveis e morrem se forem infectadas com doses altas de parasitas. As cepas resistentes produzem grandes quantidades de IFN-γ em resposta aos antígenos de leishmania,

enquanto as linhagens suscetíveis à leishmaniose fatal produzem mais IL-4 em resposta ao parasita. A promoção da resposta Th1 ou a inibição da resposta Th2 em linhagens suscetíveis aumenta sua resistência à infecção. Os mecanismos dessa diferença marcante entre as linhagens murinas são indefinidos.

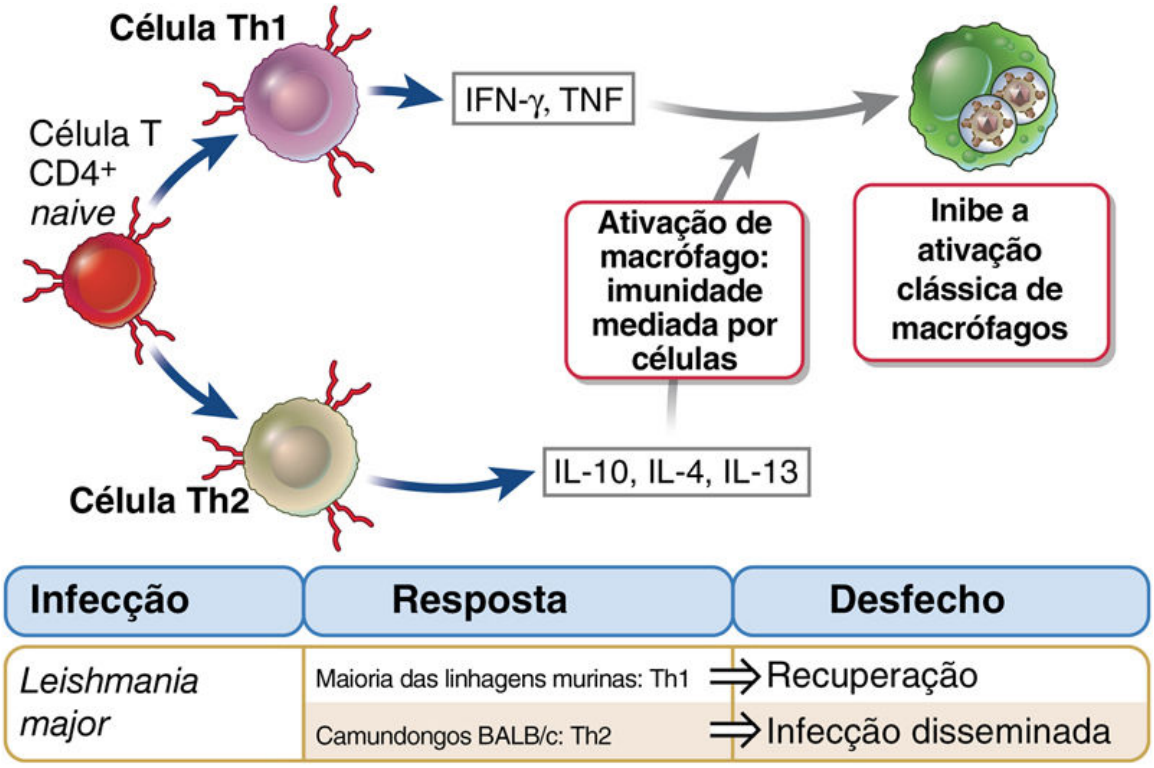


FIGURA 16.11 Papel das células T e citocinas na determinação do desfecho das infecções.
Os linfócitos T CD4$^+$ *naive* podem se diferenciar em células Th1, as quais ativam fagócitos para a destruição de microrganismos ingeridos, e em células Th2, que inibem essa via clássica de ativação dos macrófagos. O equilíbrio entre essas duas subpopulações de célula T pode influenciar o desfecho de infecções, conforme ilustrado pela infecção por *Leishmania* em camundongos — a maioria das linhagens murinas desenvolve respostas Th1 contra o parasita e remove efetivamente os organismos, porém camundongos BALB/c desenvolvem fortes respostas Th2 e sucumbem à infecção.

Os protozoários que se replicam dentro de várias células hospedeiras e as lisam, estimulando respostas específicas de anticorpo e CTL, similarmente aos vírus citopáticos. Um exemplo desse tipo de organismo é

o parasita da malária, que reside principalmente nas hemácias e em hepatócitos durante seu ciclo de vida. Por muitos anos, considerava-se que os anticorpos eram o principal mecanismo protetor contra a malária, e as tentativas iniciais de vacinação contra esta infecção enfocavam a geração de anticorpos. Hoje, é evidente que a resposta de CTL contra os parasitas residentes nos hepatócitos é uma defesa importante contra a disseminação desse protozoário intracelular. A citocina IFN-γ comprovadamente é protetora em muitas infecções por protozoários, incluindo malária, toxoplasmose e criptosporidiose.

A defesa contra muitas infecções helmínticas é mediada pela ativação de células Th2, a qual resulta em produção de anticorpos IgE e ativação de eosinófilos. Os helmintos estimulam a diferenciação de células T $CD4^+$ *naive* na subpopulação Th2 de células efetoras que secretam IL-4 e IL-5. A IL-4 estimula a produção de IgE, que se liga ao receptor Fcε de eosinófilos e mastócitos, e a IL-5 ativa eosinófilos. A IgE cobre os parasitas e os eosinófilos se ligam à IgE e são ativados para liberar os conteúdos de seus grânulos, os quais destroem os helmintos (Capítulo 20). As ações combinadas de mastócitos e eosinófilos também contribuem para a expulsão dos parasitas do intestino (Fig. 10.9). A expulsão de alguns nematódeos intestinais pode ser decorrente de mecanismos Th2-dependentes que não requerem IgE, como o peristaltismo aumentado.

As respostas imunes adaptativas a parasitas também podem contribuir para a lesão tecidual. Alguns parasitas e seus produtos induzem respostas granulomatosas com fibrose concomitante. Os ovos de *Schistosoma mansoni* depositados no fígado estimulam células T $CD4^+$ que, por sua vez, ativam macrófagos e induzem reações DTH. As reações DTH resultam na formação de granulomas ao redor dos ovos; uma característica incomum desses granulomas, especialmente em camundongos, é sua associação com as respostas Th2. (Os granulomas geralmente são induzidos por respostas Th1 contra antígenos persistentes; Capítulo 19.) Esse tipo de granulomas Th2-induzidos serve para conter os ovos do esquistossoma, porém a fibrose intensa associada a esta resposta imune celular crônica leva à cirrose, interrupção do fluxo de sangue venoso no fígado e hipertensão portal. Na filariose linfática, o alojamento dos parasitas nos vasos linfáticos leva a reações imunes celulares crônicas e, por fim, à fibrose. Isso resulta em obstrução linfática e linfedema grave. As infestações parasíticas crônicas e persistentes frequentemente estão associadas à formação de complexos de antígenos do parasita e anticorpos específicos. Os complexos podem ser depositados nos vasos sanguíneos e glomérulos renais, e

produzem vasculite e nefrite, respectivamente (Capítulo 19). A doença do imunocomplexo é uma complicação da esquistossomíase e da malária.

Imunoevasão por Parasitas

Os parasitas evadem a imunidade protetora diminuindo a própria imunogenicidade e inibindo as respostas imunes do hospedeiro. Diferentes parasitas desenvolveram meios notavelmente efetivos de resistir à imunidade (Tabela 16.5).

- Os parasitas alteram seus antígenos de superfície durante o ciclo de vida nos hospedeiros vertebrados. Há duas formas de variação antigênica bem definidas. A primeira é uma alteração estágio-específica na expressão antigênica, de modo que os estágios teciduais maduros dos parasitas produzem antígenos diferentes daqueles dos estágios infectivos. Por exemplo, o estágio de esporozoíta infectivo dos parasitas da malária é antigenicamente distinto dos merozoítas que residem no hospedeiro e que são responsáveis pela infecção crônica. Quando o sistema imune tiver respondido à infecção pelos esporozoítas, o parasita terá se diferenciado, expressará novos antígenos e já não será alvo da imunoeliminação. O segundo e mais notável exemplo de variação antigênica em parasitas é a variação contínua dos principais antígenos de superfície vistos em tripanossomos africanos, como *Trypanosoma brucei* e *Trypanosoma rhodesiense*. A variação antigênica contínua nos tripanossomos é em virtude, principalmente, das alterações na expressão dos genes codificadores do principal antígeno de superfície. Pacientes infectados mostram ondas de parasitemia no sangue, e cada onda consiste em parasitas expressando um antígeno de superfície que é diferente da onda precedente. Desse modo, no momento em que o hospedeiro produz anticorpos contra o parasita, um organismo antigenicamente diferente já está crescido. Mais de 100 ondas de parasitemia desse tipo podem ocorrer em uma única infecção. Uma consequência da variação antigênica nos parasitas é que é difícil vacinar efetivamente os indivíduos contra essas infecções.
- Os parasitas se tornam resistentes aos mecanismos imunes efetores durante o período em que residem nos hospedeiros vertebrados. Talvez, os melhores exemplos são as larvas de esquistossoma, que viajam para os pulmões de animais infectados e, durante essa

migração, desenvolvem um tegumento que é resistente ao dano causado pelo complemento e pelos CTLs.

- Os parasitas protozoários podem se ocultar do sistema imune, seja vivendo dentro das células hospedeiras ou desenvolvendo cistos resistentes aos efetores imunes. Alguns parasitas helmintos residem nos lúmens intestinais onde ficam abrigados dos mecanismos efetores imunes celulares. Os parasitas também podem soltar suas coberturas antigênicas, seja de modo espontâneo ou após a ligação a anticorpos específicos. A descamação dos antígenos torna os parasitas resistentes a ataques subsequentes mediados por anticorpo. *Entamoeba histolytica* é um parasita protozoário que solta os antígenos e também pode se converter em uma forma cística no lúmen do intestino grosso.
- Os parasitas inibem a resposta imune do hospedeiro por múltiplos mecanismos. A anergia da célula T aos antígenos do parasita tem sido observada na esquistossomose grave envolvendo o fígado, e em infecções filarióticas envolvendo o baço. Os mecanismos de irresponsividade imunológica nessas infecções são pouco conhecidos. Na filariose linfática, a infecção dos linfonodos com subsequente desorganização arquitetônica pode contribuir para uma imunidade deficiente. Alguns parasitas, como *Leishmania*, estimulam o desenvolvimento de células T reguladoras que suprimem a resposta imune o suficiente para permitir a persistência dos parasitas. Uma imunossupressão mais inespecífica e generalizada é observada na malária e na tripanossomíase africana. Essa imunodeficiência foi atribuída à produção de citocinas imunossupressoras por macrófagos ativados e células T, bem como a defeitos na ativação da célula T.

Tabela 16.5

Mecanismos de Imunoevasão por Parasitas

Mecanismos de Imunoevasão	Exemplos
Variação antigênica	Tripanossomas, *Plasmodium*
Resistência adquirida ao complemento, CTLs	Esquistossomas
Inibição de respostas imunes do hospedeiro	Filária (secundário à obstrução linfática), tripanossomas
Liberação de antígenos	*Entamoeba*

CTLs, linfócitos T citotóxicos.

As consequências das infestações parasíticas para a saúde e o desenvolvimento econômico são devastadoras. Tentativas de desenvolver vacinas efetivas contra essas infecções têm sido ativamente perseguidas, há muitos anos. Apesar de o progresso alcançado ser mais lento do que o esperado, a elucidação dos mecanismos fundamentais das respostas imunes e da imunoevasão dos parasitas se mostra promissora para o futuro.

Estratégias para o Desenvolvimento de Vacinas

O nascimento da Imunologia como ciência data da vacinação bem-sucedida contra a varíola, realizada em 1796 por Edward Jenner. A importância da imunização profilática contra doenças infecciosas é mais bem ilustrada pelo fato de programas internacionais de vacinação terem levado à completa ou quase completa erradicação de muitas dessas doenças em países desenvolvidos (Tabela 1.1). O princípio fundamental da vacinação consiste em administrar a forma morta ou atenuada de um agente infeccioso, ou um componente de um microrganismo, que não causa doença mas deflagra uma resposta imune que confere proteção contra a infecção pelo microrganismo patogênico vivo.

O sucesso da vacinação na erradicação da doença infecciosa depende de várias propriedades dos microrganismos. As vacinas são mais efetivas quando o agente infeccioso não estabelece latência, não sofre variação antigênica e não interfere na resposta imune do hospedeiro. É difícil vacinar efetivamente contra microrganismos como o HIV, que estabelece infecção latente e é altamente variável. As vacinas também são mais efetivas contra infecções que são limitadas aos hospedeiros humanos e não têm reservatórios animais.

A maioria das vacinas atualmente em uso atua induzindo imunidade humoral. Os anticorpos são o único mecanismo imune que previne infecções, neutralizando e removendo microrganismos antes que estes conquistem sua base de apoio no hospedeiro. As melhores vacinas são aquelas que estimulam o desenvolvimento de plasmócitos de vida longa produtores de anticorpos de alta afinidade, bem como células B de memória. Esses aspectos das respostas imunes humorais são melhor induzidos pela reação de centro germinativo (Capítulo 12), que requer ajuda fornecida pelas células T auxiliares $CD4^+$ foliculares antígeno proteico-específicas.

Na próxima seção, resumiremos as abordagens de vacinação já experimentadas (Tabela 16.6), bem como seus principais valores e limitações.

Tabela 16.6

Abordagens de Vacinação

Tipos de Vacina	Exemplos
Bactérias vivas atenuadas ou mortas	Bacilo de Calmette-Guérin, cólera
Vírus vivos atenuados ou mortos	Pólio, influenza, raiva
Vacinas de subunidades (antígeno)	Toxoide tetânico, toxoide diftérico
Vacinas de conjugados	*Haemophilus influenzae*, pneumococos
Vacinas sintéticas	Hepatite (proteínas recombinantes)
Vetores virais	Estudos clínicos com antígenos de HIV em vetor da varíola de canários
Vacinas de DNA	Estudos clínicos em curso para várias infecções

A tabela lista exemplos selecionados de vacinas em uso corrente.

HIV, vírus da imunodeficiência humana.

Vacinas Bacterianas e Virais Atenuadas e Inativadas

Algumas das vacinas mais antigas (primeira geração) e mais efetivas são compostas por microrganismos intactos que foram tratados de modo a serem atenuados ou mortos, para assim não mais causarem a doença e, ao mesmo tempo, reterem sua imunogenicidade. A grande vantagem das vacinas microbianas atenuadas é a indução de todas as respostas imunes inatas e adaptativas (tanto humorais como celulares) que o microrganismo patogênico induziria, sendo assim a forma ideal de indução de imunidade protetora. Louis Pasteur demonstrou pela primeira vez que bactérias vivas atenuadas conferem imunidade específica. As vacinas com bactérias atenuadas ou mortas atualmente em uso em geral induzem proteção limitada e são efetivas somente por curtos períodos. As vacinas com vírus vivos atenuados geralmente são mais efetivas, e três bons exemplos são as vacinas contra poliomielite, sarampo e febre amarela. A primeira abordagem para produção desses vírus atenuados foi a passagem repetida em culturas celulares. Mais recentemente, mutantes termossensíveis e com deleção de genes foram gerados para alcançar a mesma meta. As vacinas virais muitas vezes induzem imunidade específica duradoura, por isso a imunização de crianças é suficiente para conferir proteção por toda a vida. O aspecto mais preocupante das vacinas virais ou bacterianas atenuadas é

a segurança. A vacina oral viva e atenuada contra a poliomielite quase erradicou a doença, mas em casos raros o próprio vírus contido na vacina é reativado e causa poliomielite paralítica. De fato, o êxito da vacinação mundial está criando o problema da doença induzida por vacina que, apesar de rara, poderia se tornar mais frequente do que a doença naturalmente adquirida. Esse problema em potencial pode ter de ser abortado por meio da reversão para a vacina com o vírus morto, a fim de completar o programa de erradicação.

Uma vacina inativada amplamente usada de considerável importância em saúde pública é a vacina contra influenza. Vírus influenza cultivados em ovos de galinha são usados em dois tipos de vacinas. A vacina mais comum é uma vacina inativada (morta) trivalente usada na vacinação contra gripe administrada por via intramuscular. Três das cepas de influenza encontradas com mais frequência são selecionadas a cada ano e incorporadas nessa vacina. Um segundo tipo de vacina contra influenza envolve as mesmas três cepas, porém a vacina é feita com vírus vivos atenuados e usada como *spray* nasal.

Vacinas de Antígenos Purificados (Subunidades)

As vacinas de segunda geração foram produzidas para eliminar as preocupações relacionadas com segurança associadas aos microrganismos atenuados. Essas vacinas contendo subunidades são compostas por antígenos purificados de microrganismos ou toxinas inativadas, e geralmente são administradas com um adjuvante. Um uso efetivo dos antígenos purificados como vacinas é na prevenção de doenças causadas por toxinas bacterianas. As toxinas podem ser tornadas inofensivas sem perder a imunogenicidade, e esses toxoides induzem fortes respostas de anticorpo. A difteria e o tétano são duas infecções cujas consequências prejudiciais à vida foram amplamente controladas graças à imunização de crianças com preparações contendo toxoide. As vacinas compostas por antígenos polissacarídicos bacterianos são usadas contra pneumococos e *Haemophilus influenzae*. Como os polissacarídeos são antígenos T-independentes, tendem a deflagrar respostas de anticorpo de baixa afinidade e são fracamente imunogênicas em bebês (que não montam respostas fortes de anticorpo célula T-independentes). Podem ser geradas respostas de anticorpo de alta afinidade contra antígenos polissacarídicos até mesmo em bebês, por meio do acoplamento de polissacarídeos a proteínas para formar **vacinas conjugadas**. Essas vacinas elicitam células T auxiliares para estimular reações de centro germinativo, as quais não

ocorreriam com vacinas de polissacarídeos simples. Essas vacinas atuam como conjugados hapteno-carreador e são uma aplicação prática do princípio de cooperação celular T-B (Capítulo 12). As vacinas em uso contra *H. influenzae*, pneumococos e meningococos são vacinas conjugadas. As vacinas de proteínas purificadas estimulam respostas de células T auxiliares e de anticorpos, mas não geram CTLs potentes. A razão para o fraco desenvolvimento de CTLs está no fato de as proteínas (e peptídeos) exógenas serem inefetivas na entrada da via de apresentação antigênica do MHC de classe I. Como resultado, as vacinas de proteína são reconhecidas de modo ineficiente pelas células T $CD8^+$ restritas ao MHC de classe I.

Vacinas de Antígenos Sintéticos

Uma meta da pesquisa em vacinas tem sido identificar os antígenos ou epítopos microbianos mais imunogênicos, para sintetizá-los em laboratório e usar os antígenos sintéticos como vacinas. É possível deduzir as sequências proteicas dos antígenos microbianos a partir dos dados da sequência nucleotídica, e preparar grandes quantidades de proteínas através da tecnologia do DNA recombinante. Vacinas feitas com antígenos derivados de DNA-recombinante atualmente são usadas para o vírus da hepatite B e papilomavírus humanos (HPV, do inglês, *human papilloma virus*). No caso da vacina contra HPV mais amplamente usada, desenvolvida para prevenir cânceres causados pelo vírus, proteínas virais recombinantes de quatro cepas (HPV 6, 11, 16 e 18) são produzidas em leveduras e combinadas com um adjuvante. HPV 6 e 11 são causadores comuns de verrugas, e o HPV 16 e o 18 são as cepas de HPV mais frequentemente associadas ao câncer cervical.

Vacinas Virais Vivas Envolvendo Vírus Recombinantes

Outra abordagem para o desenvolvimento de vacinas consiste em introduzir genes codificadores de antígenos microbianos em um vírus não citopático e infectar indivíduos com este vírus. Assim, este vírus serve de fonte de antígeno em um indivíduo inoculado. A grande vantagem dos vetores virais é que estes, assim como outros vírus vivos, induzem o complemento integral de respostas imunes, incluindo respostas fortes de CTL. Essa técnica tem sido usada mais comumente com vetores de vírus da vacínia e, mais recentemente, com vetores virais da varíola dos canários, que não são patogênicos em seres humanos. A inoculação desses

vírus recombinantes em muitas espécies de animais induz imunidade humoral e celular contra o antígeno produzido pelo gene estranho (e, claro, contra o vírus da vacínia também). Um potencial problema com os vírus recombinantes é que os vírus podem infectar células hospedeiras e, mesmo que não sejam patogênicos, podem produzir antígenos que estimulam respostas de CTL que matam as células hospedeiras infectadas. Essas e outras preocupações com a segurança têm limitado uso amplamente disseminado dos vetores virais para aplicação de vacinas.

Vacinas de DNA

Um método de vacinação interessante foi desenvolvido com base em uma observação inesperada. A inoculação de um plasmídeo contendo DNA complementar (cDNA) codificador de um antígeno proteico leva a respostas imunes humorais e celulares contra esse antígeno. É provável que APCs, como as células dendríticas, sejam transfectadas pelo plasmídeo e o cDNA seja então transcrito e traduzido em proteína imunogênica indutora de respostas específicas. Os plasmídeos bacterianos são ricos em nucleotídeos CpG não metilados e são reconhecidos por um TLR9 presente em células dendríticas e outras células, deflagrando assim uma resposta imune inata que intensifica a imunidade adaptativa (Capítulo 4). Portanto, as vacinas contendo plasmídeo de DNA poderiam ser efetivas mesmo que fossem administradas sem adjuvantes. A capacidade de armazenar DNA sem refrigeração para uso em campo também torna essa tecnologia promissora. No entanto, as vacinas de DNA não foram tão efetivas quanto o esperado nos estudos clínicos, principalmente porque a primeira geração dessas vacinas não produziu quantidades adequadas de imunógeno. Atualmente, estão sendo conduzidos estudos usando vetores mais modernos para vacinação com DNA.

Adjuvantes e Imunomoduladores

A iniciação de respostas imunes dependentes de célula T contra antígenos proteicos requer que os antígenos sejam administrados com adjuvantes. A maioria dos adjuvantes deflagra respostas imunes inatas, com expressão aumentada de coestimuladores e produção de citocinas, como a IL-12, que estimulam o crescimento e diferenciação da célula T. Bactérias mortas pelo calor são poderosos adjuvantes usados comumente em animais de experimentação. Entretanto, a intensa inflamação local que esse tipo de adjuvante induz impede seu uso em seres humanos. Esforços significativos estão sendo dedicados ao desenvolvimento de adjuvantes seguros e

efetivos para uso em seres humanos. Apenas dois estão aprovados para pacientes — hidróxido de alumínio em gel (que parece promover principalmente respostas de célula B) e uma formulação lipídica chamada esqualeno, que pode ativar fagócitos. Uma alternativa aos adjuvantes é a administração de substâncias naturais que estimulam respostas de célula T junto com os antígenos. Por exemplo, a IL-12 incorporada em vacinas promove forte imunidade mediada por células. Como mencionado, o DNA plasmidial apresenta atividades adjuvante-símile intrínsecas, e é possível incorporar coestimuladores (p. ex.: moléculas B7) ou citocinas às vacinas de plasmídeo de DNA. Essas ideias interessantes ainda são experimentais.

Imunização Passiva

A imunidade protetora também pode ser conferida por imunização passiva, por exemplo, pela transferência de anticorpos específicos. Na situação clínica, a imunização passiva é mais comumente usada para o tratamento rápido de doenças potencialmente fatais causadas por toxinas, como o tétano, e para proteção contra raiva e hepatite. Anticorpos contra veneno de cobra podem salvar vidas quando administrados após a picada de serpentes venenosas. A imunidade passiva, empregando as abordagens correntes, tem curta duração, porque o hospedeiro não responde à imunização e a proteção dura apenas enquanto os anticorpos injetados persistirem. Além disso, a imunização passiva não induz memória, por isso um indivíduo imunizado não está protegido contra a exposição subsequente à toxina ou ao microrganismo. Entretanto, com base na identificação bem- -sucedida de anticorpos monoclonais humanos amplamente neutralizantes contra patógenos, como o HIV e o vírus da gripe, foram desenvolvidas novas tentativas de imunização passiva de longa duração usando um processo chamado imunoprofilaxia com vetor. Nessa abordagem, vetores virais adeno-associados são usados para introduzir genes das cadeias leve e pesada de Ig humana para um anticorpo neutralizante em seres humanos. A meta é fazer com que os indivíduos injetados sintetizem um anticorpo amplamente neutralizante protetor específico por determinado período de tempo. Os estudos clínicos já foram iniciados.

Resumo

- A interação do sistema imune com organismos infecciosos é uma interface dinâmica de mecanismos do hospedeiro destinados a eliminar infecções e estratégias microbianas projetadas para permitir a sobrevivência diante de poderosas defesas. Diferentes tipos de agentes infecciosos estimulam tipos distintos de respostas imunes e desenvolveram mecanismos exclusivos para evadir a imunidade. Em algumas infecções, a resposta imune é causa de lesão tecidual e doença.
- A imunidade inata contra bactérias extracelulares é mediada por fagócitos e o sistema complemento (as vias alternativa e da lectina).
- A principal resposta imune adaptativa contra bactérias extracelulares consiste em anticorpos específicos que opsonizam as bactérias para fagocitose e ativam o sistema complemento. As toxinas produzidas por essas bactérias são neutralizadas por anticorpos específicos. Algumas toxinas bacterianas são poderosos indutores da produção de citocinas e estas são responsáveis por grande parte da doença sistêmica associada às infecções disseminadas graves causadas por esses microrganismos.
- A imunidade inata contra bactérias intracelulares é mediada principalmente por macrófagos. Entretanto, as bactérias intracelulares são capazes de sobreviver e se replicar no interior das células hospedeiras, inclusive dos fagócitos, por terem desenvolvido mecanismos para resistir à degradação junto aos fagócitos.
- A imunidade adaptativa contra bactérias intracelulares é principalmente mediada por células e consiste na ativação de macrófagos por células T $CD4^+$, bem como no *killing* de células infectadas por CTLs $CD8^+$. A resposta patológica característica à infecção por bactérias intracelulares é a inflamação granulomatosa.
- As respostas protetoras aos fungos consistem em imunidade inata, mediada por neutrófilos e macrófagos, e imunidade adaptativa celular e humoral. Em geral, os fungos são prontamente eliminados por fagócitos e um sistema imune competente, sendo por isso que as infecções fúngicas disseminadas são vistas sobretudo em indivíduos imunodeficientes.

- A imunidade inata contra vírus é mediada por interferons do tipo I e células NK. Os anticorpos neutralizantes protegem contra a entrada de vírus nas células logo no início do curso da infecção e, posteriormente, se os vírus forem liberados a partir de células infectadas mortas. O principal mecanismo de defesa contra a infecção estabelecida é o *killing* CTL-mediado de células infectadas. Os CTLs podem contribuir para a lesão tecidual, mesmo quando os vírus infecciosos não forem perigosos por si sós. Os vírus evadem as respostas imunes por meio da variação antigênica, inibição da apresentação antigênica e produção de moléculas imunossupressoras.
- Parasitas como protozoários e helmintos originam infecções crônicas e persistentes, porque a imunidade inata que os ataca é fraca, e os parasitas desenvolveram múltiplos mecanismos para evadir e resistir à imunidade específica. A diversidade estrutural e antigênica de parasitas patogênicos se reflete na heterogeneidade das respostas imunes adaptativas deflagradas por estes parasitas. Os protozoários que vivem dentro das células hospedeiras são destruídos pela imunidade mediada por células, enquanto os helmintos são eliminados por anticorpos IgE e pelo *killing* eosinófilo-mediado, bem como por outros leucócitos. Os parasitas evadem o sistema imune variando seus antígenos durante a permanência em hospedeiros vertebrados, por meio da aquisição de resistência aos mecanismos efetores imunes, e mascarando e soltando seus antígenos de superfície.
- A vacinação é uma poderosa estratégia para prevenir infecções. As vacinas mais efetivas são aquelas que estimulam a produção de anticorpos de alta afinidade e células de memória. Muitas abordagens para vacinação estão em uso clínico e estão sendo experimentadas para diversas infecções.

Referências Sugeridas

Princípios Gerais

Boer MC, Joosten SA, Ottenhoff TH. Regulatory T-cells at the interface between human host and pathogens in infectious diseases and vaccination. *Front Immunol*. 2015;6:1–15.

Casanova JL. Human genetic basis of interindividual variability in the course of infection. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2015;112:E7118–E7127.

Casanova JL. Severe infectious diseases of childhood as monogenic inborn errors of immunity. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2015;112:E7128–E7137.

Dorhoi A, Kaufmann SH. Fine-tuning of T cell responses during infection. *Curr Opin Immunol*. 2009;21:367–377.

Honda K, Littman DR. The microbiota in adaptive immune homeostasis and disease. *Nature*. 2016;535:75–84.

Lauvau G, Loke P, Hohl TM. Monocyte-mediated defense against bacteria, fungi, and parasites. *Semin Immunol*. 2015;27:397–409.

Mandl JN, Torabi-Parizi P, Germain RN. Visualization and dynamic analysis of host-pathogen interactions. *Curr Opin Immunol*. 2014;29:8–15.

Imunidade a Bactérias Extracelulares e Intracelulares

Brodsky IE, Medzhitov R. Targeting of immune signalling networks by bacterial pathogens. *Nat Cell Biol*. 2009;11:521–526.

Cooper AM. Cell-mediated immune responses in tuberculosis. *Annu Rev Immunol*. 2009;27:393–422.

Curtis MM, Way SS. Interleukin-17 in host defence against bacterial, mycobacterial and fungal pathogens. *Immunology*. 2009;126:177–185.

Orme IM, Robinson RT, Cooper AM. The balance between protective and pathogenic immune responses in the TB-infected lung. *Nat Immunol*. 2015;16:57–63.

Imunidade aos Vírus

Duan S, Thomas PG. Balancing immune protection and immune pathology by CD8(+) T-cell responses to influenza infection. *Front Immunol*. 2016;7:25.1–25.16.

Klenerman P, Hill A. T cells and viral persistence: lessons from diverse infections. *Nat Immunol*. 2005;6:873–879.

Koff WC, Burton DR, Johnson PR, et al. Accelerating next-generation vaccine development for global disease prevention. *Science*. 2013;340: 1232910-1–1232910-7.

Mandl JN, Ahmed R, Barreiro LB, et al. Reservoir host immune responses to emerging zoonotic viruses. *Cell*. 2015;160:20–35.

Pfeiffer JK, Virgin HW. Viral immunity. Transkingdom control of viral infection and immunity in the mammalian intestine. *Science*. 2016;351: ad5872-1–ad5872-5.

Schuren AB, Costa AI, Wiertz EJ. Recent advances in viral evasion of the MHC Class I processing pathway. *Curr Opin Immunol*. 2016;40:43–50.

Swain SL, McKinstry KK, Strutt TM. Expanding roles for CD4(+) T cells in immunity to viruses. *Nat Rev Immunol*. 2012;12:136–148.

Virgin HW, Wherry EJ, Ahmed R. Redefining chronic viral infection. *Cell*. 2009;138:30–50.

Imunidade aos Fungos

Borghi M, Renga G, Puccetti M, et al. Antifungal Th Immunity: growing up in family. *Front Immunol*. 2014;5:1–8.

Conti HR, Gaffen SL. IL-17-mediated immunity to the opportunistic fungal pathogen Candida albicans. *J Immunol*. 2015;195:780–788.

Netea MG, Joosten LA, van der Meer JW, et al. Immune defence against Candida fungal infections. *Nat Rev Immunol*. 2015;15:630–642.

Santamaria R, Rizzetto L, Bromley M, et al. Systems biology of infectious diseases: a focus on fungal infections. *Immunobiology*. 2011;216:1212–1227.

Imunidade aos Parasitas

de Freitas EO, Leoratti FM, Freire-de-Lima CG, et al. The contribution of immune evasive mechanisms to parasite persistence in visceral Leishmaniasis. *Front Immunol*. 2016;7:153.1–153.7.

Maizels RM, Pearce EJ, Artis D, et al. Regulation of pathogenesis and immunity in helminth infections. *J Exp Med*. 2009;206:2059–2066.

Perez-Mazliah D, Langhorne J. CD4 T-cell subsets in malaria: Th1/Th2 revisited. *Front Immunol*. 2014;5:1–8.

Radtke AJ, Tse SW, Zavala F. From the draining lymph node to the liver: the induction and effector mechanisms of malaria-specific $CD8^+$ T cells. *Semin Immunopathol*. 2015;37:211–220.

Vacinas e Adjuvantes

Apostolico Jde S, Lunardelli VA, Coirada FC, et al. Adjuvants: classification, modus operandi, and licensing. *J Immunol Res*. 2016;2016:1–16.

Grunwald T, Ulbert S. Improvement of DNA vaccination by adjuvants and sophisticated delivery devices: vaccine-platforms for the battle against infectious diseases. *Clin Exp Vaccine Res*. 2015;4:1–10.

Harris J, Sharp FA, Lavelle EC. The role of inflammasomes in the immunostimulatory effects of particulate vaccine adjuvants. *Eur J Immunol*. 2010;40:634–638.

Kamphorst AO, Araki K, Ahmed R. Beyond adjuvants: immunomodulation strategies to enhance T cell immunity. *Vaccine*. 2015;33(suppl 2):B21–B28.

Long CA, Zavala F. Malaria vaccines and human immune responses. *Curr Opin Microbiol*. 2016;32:96–102.

CAPÍTULO 17

Imunologia do Transplante

PRINCÍPIOS GERAIS DA IMUNOLOGIA DO TRANSPLANTE

RESPOSTAS IMUNES ADAPTATIVAS AOS ALOENXERTOS
- Natureza dos Aloantígenos
- Reconhecimento de Aloantígenos pelas Células T
- Ativação e Funções Efetoras dos Linfócitos T Alorreativos
- Ativação das Células B Alorreativas, Produção e Funções dos Aloanticorpos

PADRÕES E MECANISMOS DE REJEIÇÃO DOS ALOENXERTOS
- Rejeição Hiperaguda
- Rejeição Aguda
- Rejeição Crônica e Vasculopatia do Enxerto

PREVENÇÃO E TRATAMENTO DA REJEIÇÃO DOS ALOENXERTOS
- Métodos para Reduzir a Imunogenicidade dos Aloenxertos
- Imunossupressão para Prevenir ou Tratar a Rejeição de Aloenxertos
- Métodos para Induzir Tolerância Doador-Específica

TRANSPLANTE XENOGÊNICO

TRANSFUSÃO SANGUÍNEA E OS GRUPOS DE ANTÍGENOS SANGUÍNEOS ABO E RH
- Antígenos dos Grupos Sanguíneos ABO
- Antígenos de Outros Grupos Sanguíneos

TRANSPLANTE DE CÉLULAS-TRONCO HEMATOPOIÉTICAS (CTHS)

Indicações, Métodos e Barreiras Imunológicas no Transplante de Células-tronco Hematopoiéticas

Complicações Imunológicas dos Transplantes de Células-tronco Hematopoiéticas

RESUMO

O transplante é amplamente utilizado para a substituição de órgãos e tecidos não funcionais por órgãos ou tecidos saudáveis. O transplante é o processo de remoção de células, tecidos ou órgãos, chamados **enxertos**, de um indivíduo e sua transferência para um indivíduo (geralmente) diferente. O indivíduo que fornece o enxerto é chamado **doador**, e o indivíduo que o recebe é o **receptor** ou **hospedeiro**. Se o enxerto é colocado em sua localização anatômica normal, o procedimento é chamado transplante ortotópico; se o enxerto é colocado em local diferente, o procedimento é chamado transplante heterotópico. A **transfusão** refere-se à transferência de células sanguíneas circulantes ou de plasma de um indivíduo para outro. O transplante clínico para tratamento de doenças humanas tem aumentado continuamente durante os últimos 45 anos. O transplante de células células-tronco hematopoéticas (CTHs), rins, fígados e corações é uma prática comum na medicina clínica, e o transplante de outros órgãos, tais como pulmão e pâncreas, está se tornando mais frequente (Fig. 17.1). Mais de 30 mil transplantes renais, de coração, pulmão e fígado são atualmente realizados nos Estados Unidos a cada ano. Além disso, transplantes de mãos e faces estão sendo realizados em alguns centros médicos, enquanto transplantes de vários outros órgãos ou células, incluindo células-tronco teciduais, estão sendo testados.

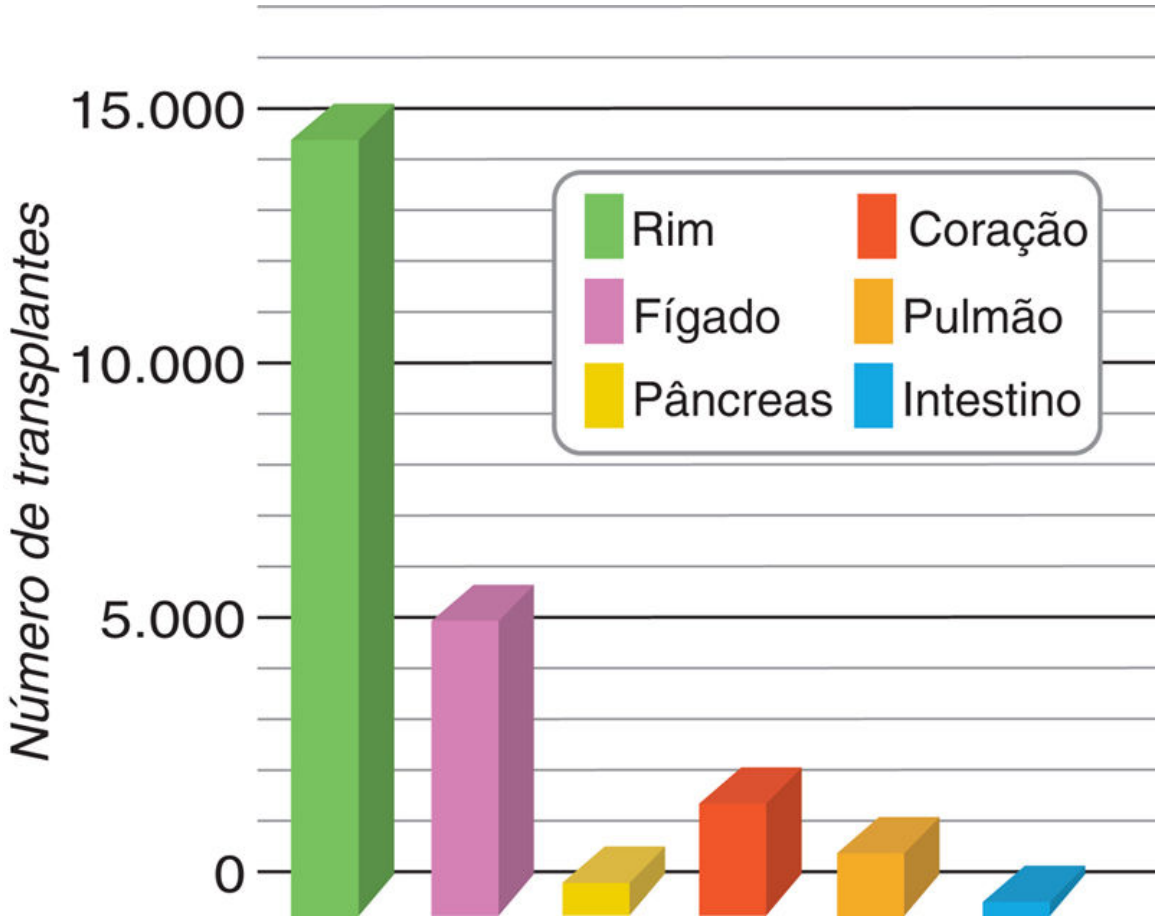


FIGURA 17.1 Número de transplantes por tipo de órgão. (Dados da United Network for Organ Sharing. https://www.unos.org/data.)

Assim que o desafio técnico de transplantar órgãos cirurgicamente foi superado, logo se tornou claro que a resposta imunológica contra os tecidos enxertados seria a principal barreira para a sobrevivência de órgãos e tecidos transplantados. Por outro lado, controlar a resposta imunológica é a chave para o sucesso do transplante. Essa percepção tem levado ao desenvolvimento da Imunologia do transplante como uma disciplina dentro do tema mais amplo da Imunologia, e este é o tema do presente capítulo.

Princípios Gerais da Imunologia do Transplante

Com base em estudos experimentais e observações clínicas, há vários princípios que se aplicam unicamente às respostas imunes contra transplantes.

O transplante de células ou tecidos de um indivíduo para outro geneticamente não idêntico leva invariavelmente à rejeição do transplante devido a uma resposta imune adaptativa. Esse problema foi inicialmente observado quando as tentativas para substituir a pele lesada de pacientes com queimaduras pela pele de doadores não relacionados mostraram-se invariavelmente malsucedidas. Dentro de 1 a 2 semanas, a pele transplantada sofria necrose e se soltava. A falência dos enxertos levou Peter Medawar e outros pesquisadores a estudarem o transplante de pele em modelos animais. Esses experimentos estabeleceram que a falência do enxerto de pele foi causada por uma reação inflamatória, que eles chamaram **rejeição**. O conhecimento de que a rejeição do enxerto é o resultado de uma resposta imune adaptativa surgiu com base em experimentos demonstrando que o processo tem características de memória e especificidade, além de ser mediado por linfócitos (Fig. 17.2). Por exemplo, a rejeição após o primeiro transplante entre um doador e um receptor não idêntico (chamada rejeição de primeira fase) ocorre entre 10 e 14 dias. Já o segundo transplante do mesmo doador para esse receptor (chamada rejeição de segunda fase) ocorre mais rapidamente, indicando que o receptor desenvolveu memória para tecido enxertado. Indivíduos que rejeitaram um enxerto de um doador apresentam rejeição acelerada a outro enxerto proveniente do mesmo doador, mas não de um doador diferente, demonstrando que o processo de rejeição é imunologicamente específico. Esses resultados experimentais foram repetidos em transplantes clínicos. Talvez, a evidência mais convincente mostrando que a rejeição do enxerto é uma resposta imunológica adaptativa tenha sido a constatação de que a capacidade de rejeitar rapidamente um transplante com cinética de segunda fase pode ser transferida por linfócitos de um hospedeiro sensibilizado para um hospedeiro *naive*.

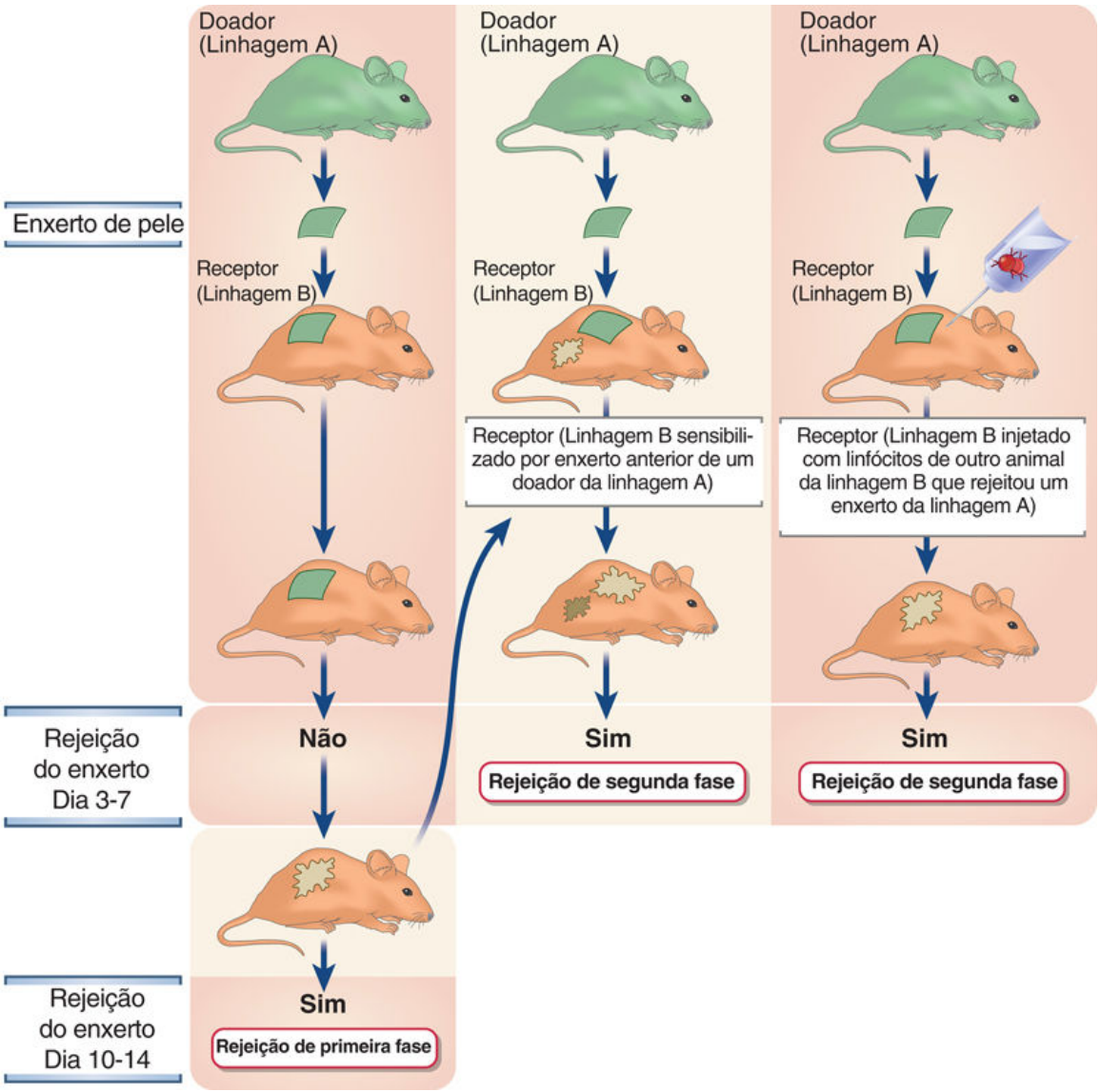


FIGURA 17.2 Rejeição de primeira e segunda fase de aloenxertos.
Os resultados dos experimentos apresentados indicam que a rejeição do enxerto apresenta as características das respostas imunes adaptativas, ou seja, memória e mediação por linfócitos. Um camundongo da linhagem consanguínea B rejeitará o enxerto de um camundongo da linhagem consanguínea A com uma cinética de primeira fase (*painel esquerdo*). Um camundongo da linhagem consanguínea B sensibilizado por um enxerto anterior de um camundongo da linhagem consanguínea A rejeitará um segundo enxerto da linhagem consanguínea A com uma cinética de segunda fase (*painel central*), demonstrando memória. Um camundongo da linhagem consanguínea B injetado com linfócitos de outro camundongo da mesma linhagem que rejeitou o enxerto de um camundongo da linhagem consanguínea A rejeitará um enxerto do

camundongo da linhagem A com cinética de segunda fase (*painel direito*), demonstrando o papel dos linfócitos como mediadores da rejeição e da memória. Um camundongo da linhagem consanguínea B sensibilizado por um enxerto anterior de um camundongo da linhagem A rejeitará o enxerto de uma terceira linhagem não relacionada com cinética de primeira fase, demonstrando assim uma outra característica da imunidade adaptativa, a especificidade (*não mostrada*). Enxertos singênicos nunca são rejeitados (*não mostrados*).

Os imunologistas de transplantes desenvolveram um vocabulário especial para descrever os tipos de células e tecidos encontrados no contexto dos transplantes. Um enxerto transplantado de um indivíduo para o mesmo indivíduo é chamado **enxerto autólogo**. Um enxerto transplantado entre dois indivíduos geneticamente idênticos é denominado **enxerto singênico.** Um enxerto transplantado entre dois indivíduos geneticamente diferentes da mesma espécie é chamado **enxerto alogênico** (ou **aloenxerto**). Um enxerto transplantado entre indivíduos de espécies diferentes é chamado **enxerto xenogênico** (ou **xenoenxerto**). As moléculas reconhecidas como estranhas em enxertos são chamadas **aloantígenos** e aquelas presentes nos xenoenxertos são chamadas **xenoantígenos**. Os linfócitos e anticorpos que reagem com os aloantígenos ou xenoantígenos são descritos como **alorreativos** ou **xenorreativos**, respectivamente.

Além das respostas imunes adaptativas específicas para as diferenças alogênicas entre doador e receptor, a imunidade inata tem um papel no resultado do transplante. A interrupção do suprimento sanguíneo para o tecido e órgãos durante o período entre a remoção de um doador e a transferência para um receptor normalmente causa algum dano isquêmico. Isso pode resultar na expressão de padrões moleculares associados ao dano (DAMPs, do inglês, *damage-associated molecular patterns*) no enxerto (Capítulo 4), estimulando respostas inatas mediadas tanto por células inatas do hospedeiro no interior do enxerto quanto pelo sistema imune inato do doador. Adicionalmente, as células *natural killer* (NK) do hospedeiro podem responder à ausência de moléculas de histocompatibilidade singênicas nas células do enxerto doado (Capítulo 4) e, portanto, contribuir para a rejeição do enxerto. Essas respostas inatas podem diretamente causar lesão ao enxerto, mas também acredita-se que amplifiquem respostas adaptativas pela ativação de células apresentadoras de antígenos (APCs, do inglês, *antigen-presenting cells*), como é o caso das respostas imunes aos microrganismos (Capítulo 6).

A maior parte deste capítulo enfoca o transplante alogênico, por ser de longe o mais comumente realizado do que o transplante xenogênico, discutido brevemente no final do capítulo. Consideraremos tanto a Imunologia básica quanto alguns aspectos da prática clínica do transplante. Concluiremos o capítulo com uma discussão sobre o transplante de CTHs, o que levanta questões especiais geralmente não encontradas nos transplantes de órgãos sólidos.

Respostas Imunes Adaptativas aos Aloenxertos

Os aloantígenos elicitam tanto respostas imunes celulares quanto humorais. Os mecanismos moleculares e celulares do alorreconhecimento são mais bem entendidos quando considerados os antígenos do enxerto que estimulam respostas alogênicas e as propriedades dos linfócitos que respondem a esses antígenos.

Natureza dos Aloantígenos

A maioria dos antígenos que estimulam respostas imunes adaptativas contra aloenxertos são proteínas codificadas por genes polimórficos que diferem entre os indivíduos. Essas proteínas são chamadas de moléculas de histocompatibilidade porque determinam se um tecido (*histo*, tecido) enxertado é compatível ou incompatível com o sistema imune do hospedeiro. Como discutido no Capítulo 6, todos os animais de uma linhagem consanguínea são geneticamente idênticos e são homozigotos para todos os genes (exceto os genes dos cromossomos sexuais nos machos). Por outro lado, os animais consanguíneos de diferentes linhagens, e indivíduos em uma espécie não consanguínea (exceto gêmeos idênticos), diferem em muitos dos genes que herdam. As regras básicas da Imunologia dos transplantes, inicialmente estabelecidas com base em experimentos realizados em camundongos geneticamente definidos, são as seguintes (Fig. 17.3):

- As células ou órgãos transplantados entre indivíduos geneticamente idênticos (gêmeos idênticos ou membros da mesma linhagem consanguínea de animais) não são rejeitados.
- As células ou órgãos transplantados entre pessoas geneticamente não idênticas ou membros de duas linhagens consanguíneas diferentes de uma espécie são quase sempre rejeitados.
- A descendência de um cruzamento entre duas linhagens consanguíneas diferentes de animais não irá rejeitar enxertos de qualquer um dos pais. Em outras palavras, um animal F1 (A × B) não rejeitará enxertos de animais da linhagem A ou B. [Essa regra é violada no transplante de CTHs, quando as células NK de um

receptor F1 (A × B) rejeitam as CTHs de qualquer um dos pais, como veremos mais adiante neste capítulo.]

- Um enxerto derivado da prole de um cruzamento entre duas linhagens consanguíneas diferentes de animais será rejeitado por qualquer um dos pais. Em outras palavras, um enxerto de um animal F1 (A × B) será rejeitado por qualquer animal da linhagem A ou B.

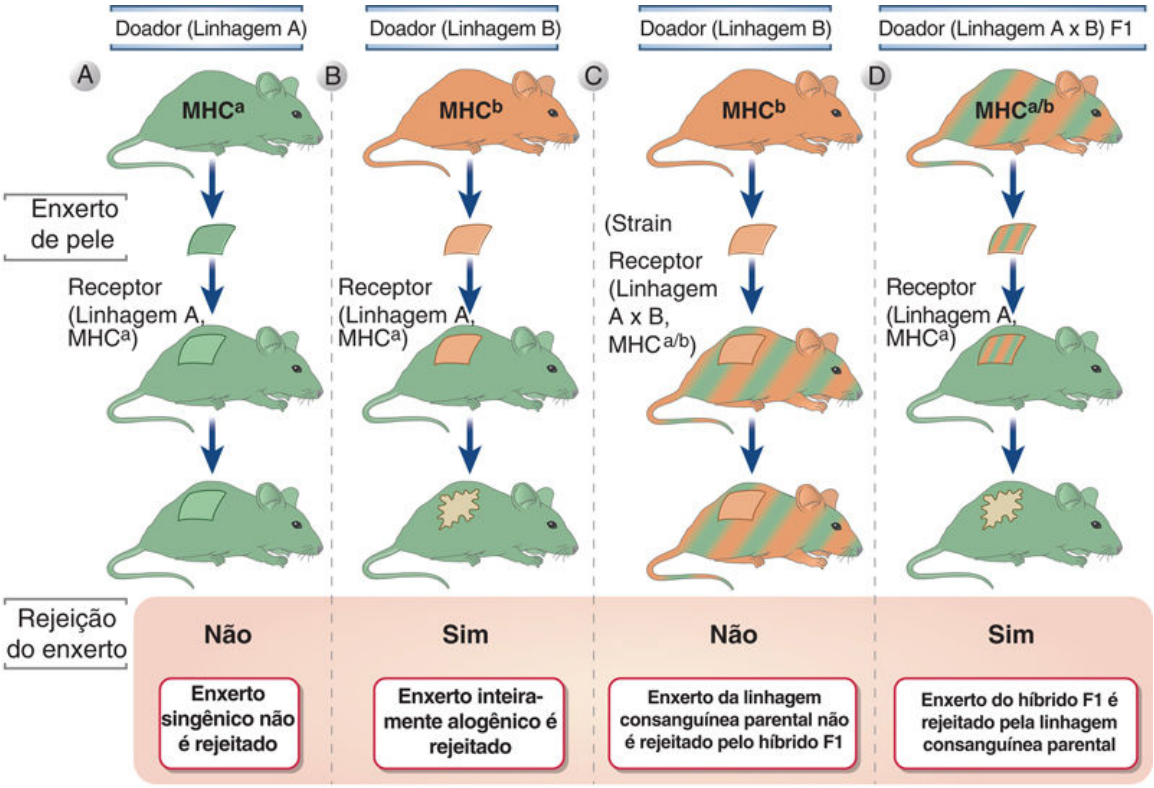


FIGURA 17.3 A genética da rejeição do enxerto.
Na ilustração, as duas cores diferentes do camundongo representam as linhagens consanguíneas com diferentes haplótipos do MHC. Os alelos do MHC herdados de ambos os pais são expressos de maneira codominante na pele de uma prole A × B e, portanto, esses camundongos são representados por ambas as cores. Enxertos singênicos não são rejeitados (A). Os aloenxertos são sempre rejeitados (B). Enxertos de um progenitor A ou B não serão rejeitados por um descendente F1 (A × B) (C), mas os enxertos de F1 serão rejeitados por ambos os progenitores (D). Esses fenômenos se devem ao fato de que os produtos dos genes *MHC* são responsáveis pela rejeição do enxerto; enxertos são rejeitados somente se expressarem um tipo de MHC (representado por verde ou laranja), que não é expresso pelo camundongo receptor.

Tais resultados sugerem que as moléculas nos enxertos responsáveis por elicitar a rejeição devem ser polimórficas, e sua expressão é codominante. Polimórfico refere-se ao fato de esses antígenos do enxerto diferirem entre os indivíduos de uma espécie (quando não são gêmeos idênticos) ou entre diferentes linhagens consanguíneas de animais. A expressão codominante significa que cada indivíduo herda genes que codificam as moléculas de ambos os pais, e ambos alelos parentais são expressos. Dessa maneira, animais F1 (A × B) expressam os alelos A e B, e "enxergam" tanto os

tecidos de A quanto os tecidos de B como próprios, ao passo que os animais consanguíneos A ou B expressam somente o respectivo alelo e "enxergam" os tecidos de F1 (A × B) como parcialmente estranhos. Assim, um animal F1 (A × B) não rejeita enxertos da linhagem A ou B porque expressa todos os genes doados por cada progenitor e, portanto, será tolerante às proteínas por eles codificadas. Em contraste, linhagens receptoras A e B rejeitam um enxerto de F1 (A × B), porque esse enxerto expressará proteínas ausentes em cada progenitor e, portanto, o progenitor não será tolerante àquelas proteínas.

As moléculas do complexo principal de histocompatibilidade (MHC, do inglês,* major histocompatibility complex*) ligam peptídeos e os apresentam às células T, e são responsáveis por reações de rejeição fortes e rápidas. As moléculas do MHC, descritas no Capítulo 6, receberam esse nome antes que sua função fisiológica fosse entendida. George Snell e colegas produziram pares de linhagens congênitas de camundongos consanguíneos, criados para serem geneticamente idênticos uns aos outros, exceto quanto aos genes necessários para a rejeição do enxerto. Eles utilizaram esses camundongos para identificar genes polimórficos, nomeados genes do MHC, que codificam os alvos moleculares da rejeição dos aloenxertos. Os transplantes da maioria dos tecidos entre qualquer par de indivíduos, exceto os gêmeos idênticos, será rejeitado porque as moléculas do MHC são tão polimórficas que dois indivíduos nunca herdam as mesmas moléculas. O papel das moléculas do MHC como antígenos que causam a rejeição do enxerto é uma consequência da natureza do reconhecimento antigênico pelas células T, como discutiremos mais tarde. Lembre-se de que as moléculas do MHC humano são chamadas antígenos leucocitários humanos (HLAs, do inglês, *human leukocyte antigens*) e no contexto do transplante em seres humanos, os termos de *MHC* e *HLA* são utilizados indistintamente um do outro.

No cenário de qualquer transplante entre doador e receptor geneticamente não idênticos, haverá antígenos polimórficos diferentes das moléculas do MHC contra as quais o receptor pode montar uma resposta imunológica. Esses antígenos normalmente induzem reações de rejeição fracas ou mais lentas (mais graduais) do que as moléculas do MHC e, por isso, são chamados **antígenos de histocompatibilidade secundários**. A relevância dos antígenos de histocompatibilidade secundários na clínica do transplante de órgãos sólidos é incerta, principalmente porque houve pouco sucesso na identificação dos antígenos relevantes. Em camundongos, o antígeno H-Y masculino parece ser um alvo do reconhecimento imunológico por fêmeas receptoras de enxertos

provenientes de doadores machos. Em seres humanos, embora exista um risco ligeiramente maior de rejeição aos transplantes cardíacos realizados entre doador do sexo masculino para receptoras do sexo feminino, em comparação com transplantes entre indivíduos do mesmo sexo, dada a escassez de doadores de coração, o pareamento pelo sexo não é exequível. Os antígenos de histocompatibilidade secundários desempenham um papel mais significativo na estimulação de respostas do enxerto *versus* hospedeiro após o transplante de CTHs, discutidos mais adiante, embora a natureza dos antígenos relevantes nesse cenário também não esteja definida.

Reconhecimento de Aloantígenos pelas Células T

As moléculas alogênicas do MHC de um enxerto podem ser apresentadas para o reconhecimento pelas células T do receptor de duas maneiras diferentes, chamadas de vias direta e indireta (Fig. 17.4). Estudos iniciais demonstraram que as células T do receptor do enxerto reconhecem as moléculas do MHC intactas (não processadas) do enxerto, e isso é chamado **apresentação direta (**ou **reconhecimento direto) dos aloantígenos**. Estudos subsequentes mostraram que, por vezes, as células T do receptor reconhecem as moléculas do MHC do enxerto (doador) somente no contexto de moléculas de MHC do receptor, o que implica que as moléculas de MHC do receptor devem estar apresentando peptídeos derivados de proteínas do MHC do doador alogênico para células T do receptor. Esse processo é chamado **apresentação indireta (**ou **reconhecimento indireto)**, e é essencialmente o mesmo que o reconhecimento de qualquer antígeno proteico estranho (p. ex.: microbiano). Como será discutido adiante, a resposta inicial de células T aos aloantígenos do MHC provavelmente ocorre nos linfonodos drenantes do enxerto, independentemente de resultar de reconhecimento direto ou indireto.

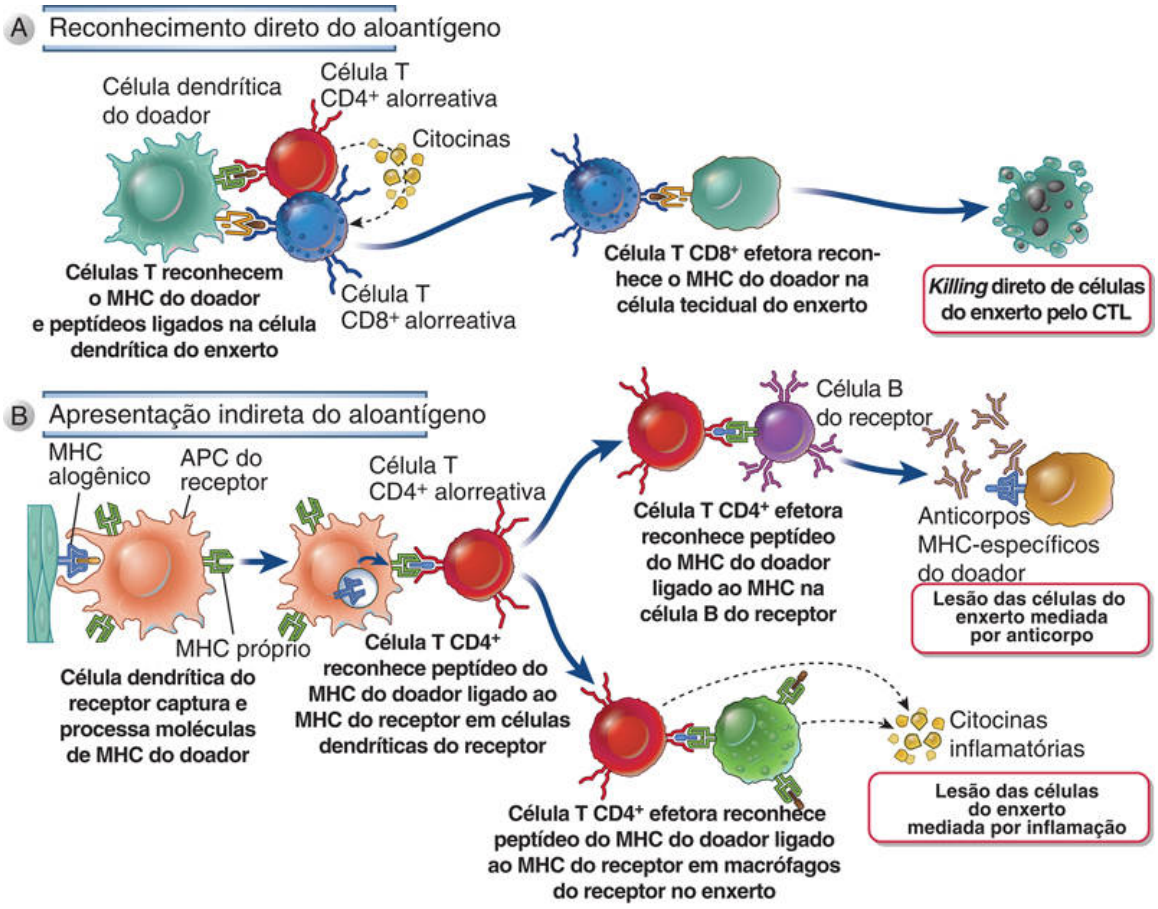


FIGURA 17.4 Reconhecimento direto e indireto de aloantígenos.

A, O reconhecimento direto do aloantígeno ocorre quando as células T alorreativas se ligam diretamente a uma molécula de MHC alogênica intacta com um peptídeo ligado presente em uma célula dendrítica ou outra APC do enxerto (doador), no interior dos linfonodos. As células T $CD4^+$ ou $CD8^+$ podem reconhecer diretamente as moléculas do MHC de classe II ou de classe I do doador, respectivamente, e se diferenciarão em células T auxiliares ou CTL. Os CTL reconhecerão diretamente o mesmo complexo MHC-peptídeo do doador exibido nas células teciduais do enxerto e destruirão essas células. **B,** O reconhecimento indireto do aloantígeno ocorre quando as moléculas de MHC alogênicas originárias da células do enxerto são capturadas e processadas pelas APCs do receptor e os fragmentos peptídicos das moléculas de MHC alogênicas contendo resíduos de aminoácidos polimórficos são ligados e apresentados pelas moléculas de MHC do receptor (próprias). As células T auxiliares MHC-específicas do doador geradas dessa maneira podem auxiliar as células B a produzir anticorpos específicos para o MHC do doador que podem lesar as células do enxerto. As células T auxiliares podem também ser

ativadas no enxerto por macrófagos do receptor apresentando os mesmos peptídeos derivados do MHC do doador, levando à lesão inflamatória do enxerto. *APC*, célula apresentadora de antígeno.

Reconhecimento Direto de Aloantígenos do MHC em Células do Doador

No caso do reconhecimento direto, as moléculas intactas de MHC exibidas pelas células do enxerto são reconhecidas pelas células T do receptor sem a necessidade de processamento pelas APCs do hospedeiro (Fig. 17.4A). Pode parecer intrigante que as células T, normalmente selecionadas durante a sua maturação para serem restritas ao MHC próprio, sejam capazes de reconhecer moléculas de MHC estranhas (alogênicas ou xenogênicas). Uma provável explicação é que os receptores de células T (TCRs, do inglês, *T cell receptor*) têm alguma especificidade intrínseca por moléculas do MHC, independentemente do fato de serem próprias ou estranhas. Além disso, durante o desenvolvimento das células T no timo, a seleção positiva promove a sobrevivência de células T com fraca reatividade ao MHC próprio, e entre essas células T, pode haver muitas com forte reatividade às moléculas de MHC alogênicas. A seleção negativa no timo elimina eficientemente as células T com alta afinidade para o MHC próprio (Capítulos 8 e 15), mas não necessariamente elimina as células T que se ligam fortemente às moléculas de MHC alogênico, simplesmente porque essas moléculas não estão presentes no timo. O resultado é que o repertório maduro inclui muitas células T que se ligam a moléculas de MHC alogênico com alta afinidade. Portanto, pode-se pensar em alorreconhecimento direto como exemplo de uma reação imunológica cruzada na qual uma célula T selecionada para ser restrita ao MHC próprio é capaz de se ligar a moléculas de MHC alogênicas estruturalmente semelhantes com afinidade alta o suficiente para permitir a ativação da célula T (Fig. 17.5).

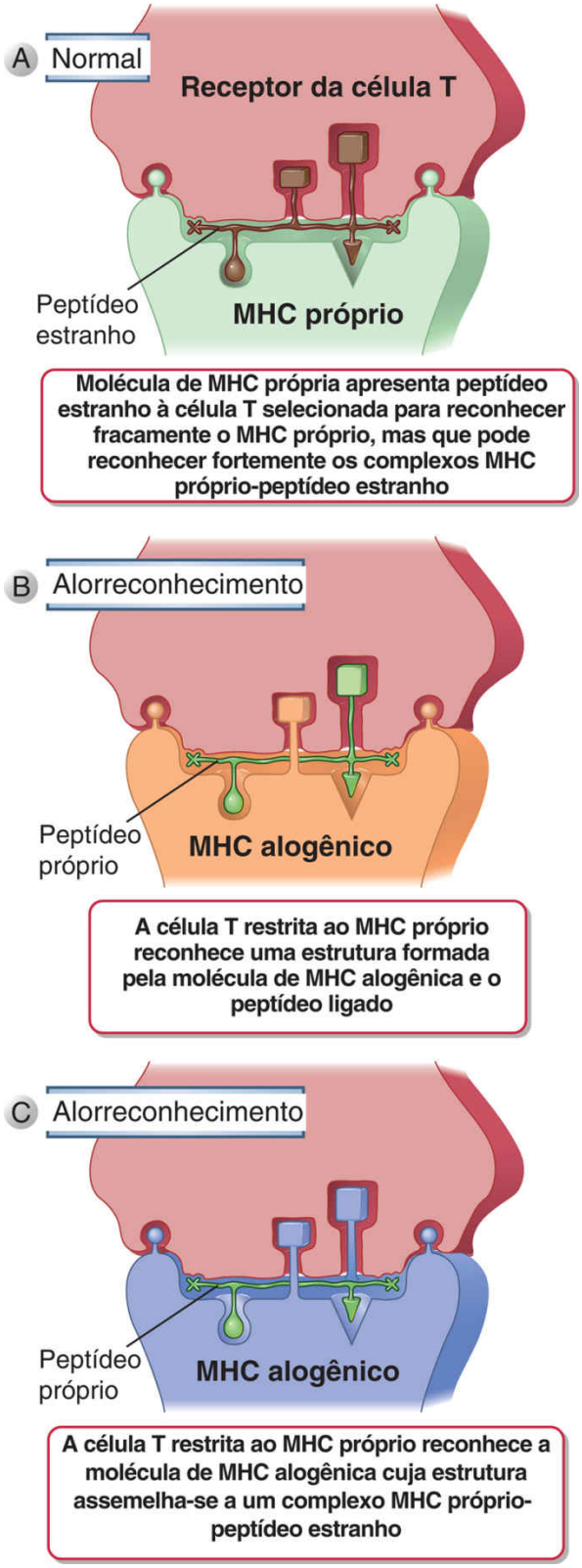


FIGURA 17.5 Base molecular do reconhecimento direto das moléculas de MHC alogênicas.
O reconhecimento direto das moléculas de MHC alogênicas pode

ser pensado como uma reação cruzada na qual uma célula T específica para um complexo molécula do MHC próprio-peptídeo estranho **(A)** também reconhece uma molécula de MHC alogênica **(B** e **C)**. Os peptídeos que se ligam a moléculas de MHC no enxerto podem contribuir para o alorreconhecimento **(B)** ou não **(C)**.

As moléculas de MHC expressas em superfícies celulares normalmente contêm peptídeos ligados e, em alguns casos, o peptídeo contribui para a estrutura reconhecida pela célula T alorreativa, exatamente o mesmo papel dos peptídeos no reconhecimento normal dos antígenos estranhos pelas células T restritas ao MHC próprio (Fig. 17.5B). Mesmo que possam ser derivados de proteínas que estão presentes no doador e no receptor, esses peptídeos são exibidos pelas moléculas de MHC alogênicas das células do enxerto. Portanto, os complexos de peptídeos (próprios ou estranhos) e moléculas de MHC alogênico vão ter uma "aparência" diferente dos complexos peptídeo-MHC próprio. Em outros casos, o reconhecimento direto e a ativação de uma célula T alorreativa podem ocorrer de maneira independente de qual peptídeo é carreado pela molécula de MHC alogênica, porque os resíduos de aminoácidos polimórficos da molécula de MHC alogênico sozinhos formam uma estrutura que se assemelha ao MHC próprio mais o peptídeo (Fig. 17.5C).

As respostas das células T para as moléculas do MHC alogênico diretamente apresentadas são muito fortes, porque há uma alta frequência de células T que podem reconhecer diretamente qualquer proteína do MHC alogênico. Estima-se que cerca de 1 a 10% de todas as células T de um indivíduo irão reconhecer diretamente e reagir contra uma molécula de MHC alogênica de uma célula do doador. Em um notável contraste, a frequência de células T *naive* que reagem contra qualquer peptídeo microbiano exibido pelas moléculas do MHC próprias é de aproximadamente 1 em 10^5 ou 10^6 células T. Há várias explicações para essa alta frequência de células T capazes de reconhecer diretamente moléculas do MHC alogênico.

- Muitos peptídeos diferentes derivados de proteínas celulares do doador podem se combinar com uma única molécula de MHC alogênico, e cada uma dessas combinações peptídeo-MHC pode, teoricamente, ativar um clone diferente de células T do receptor. Ao contrário, a maioria dos microrganismos ou dos antígenos proteicos contêm relativamente poucos peptídeos que podem ser exibidos a qualquer momento pelas moléculas de MHC próprio de um indivíduo, de modo que poucos clones de células T são

ativados. Estima-se que entre as milhares de moléculas do MHC presentes em uma APC alogênica, a maior parte possa ser reconhecida por células T reativas a qualquer momento. Entretanto, no caso de uma infecção, menos de 1% (chegando talvez a 0,1%) das moléculas de MHC próprias em uma APC normalmente apresentam qualquer peptídeo microbiano de uma só vez, e somente essas moléculas podem ser reconhecidas por células T específicas para o antígeno microbiano.

- As moléculas de MHC alogênico podem exibir não somente peptídeos estranhos das células do doador, como também autopeptídeos, e esses complexos MHC-peptídeo (próprios ou estranhos) podem ativar as células T. Como não são normalmente expressos no timo ou em tecidos periféricos, esses complexos não participaram da seleção negativa das células T potencialmente perigosas para enxertos alogênicos. Em contraste, as células T específicas para autopeptídeos exibidos por moléculas de MHC próprias são eliminadas pela seleção negativa no timo e por mecanismos de tolerância periférica (Capítulos 8 e 15). Por isso, a gama de complexos peptídeo-MHC que podem ativar as células T é muito maior se o MHC for alogênico.
- Muitas das células T que respondem a uma molécula de MHC alogênica, mesmo na primeira exposição, são células T de memória. É provável que essas células de memória tenham sido geradas durante a exposição prévia a outros antígenos estranhos (p. ex.: microbianos) e reagem de forma cruzada com as moléculas de MHC alogênicas. Essas células de memória não são apenas populações expandidas de células antígeno-específicas, mas também são as que respondem de maneira mais rápida e potente do que os linfócitos *naive*, e assim contribuem para a maior força da resposta inicial de células T alorreativas a um novo enxerto.

O alorreconhecimento direto pode gerar tanto células T $CD4^+$ quanto células T $CD8^+$ que reconhecem antígenos dos enxertos e contribuem para a rejeição. O papel da resposta de células T alorreativas na rejeição é descrito mais adiante.

Reconhecimento Indireto de Aloantígenos

Na via indireta, as moléculas de MHC do doador (alogênicas) são capturadas e processadas pelas APCs do receptor, e os peptídeos

derivados dessas moléculas são apresentados em associação a moléculas de MHC próprias (Fig. 17.4B). Assim, os peptídeos derivados das moléculas de MHC alogênico são exibidos pelas APCs do hospedeiro e reconhecidos pelas células T como antígenos convencionais derivados de proteínas estranhas. Como as moléculas de MHC alogênico apresentam sequências de aminoácidos diferentes daquelas do hospedeiro, elas próprias podem agir como antígenos estranhos e gerar peptídeos estranhos associados às moléculas de MHC próprias na superfície de APCs do hospedeiro. Cada molécula de MHC alogênico pode dar origem a múltiplos peptídeos estranhos para o hospedeiro, cada um deles reconhecido por diferentes clones de células T. A apresentação indireta pode resultar no alorreconhecimento por células T $CD4^+$, porque os aloantígenos são adquiridos pelas APCs do hospedeiro principalmente através da via vesicular endossomal (i.e., como uma consequência da fagocitose) e, por isso, apresentados por moléculas do MHC de classe II. Alguns antígenos de células fagocitadas do enxerto entram na via do MHC de classe I de apresentação antigênica e são indiretamente reconhecidos por células T $CD8^+$. Esse fenômeno é um exemplo de apresentação cruzada ou *cross-priming* (Fig. 6.17), na qual as células dendríticas ingerem proteínas de outra célula (p. ex.: do enxerto) liberadas para o citosol, onde são processadas em peptídeos pelos proteassomos. Esses peptídeos então são apresentados pelas moléculas do MHC de classe I, para ativar (primar) os linfócitos T $CD8^+$.

As evidências de que o reconhecimento indireto das moléculas de MHC alogênicas desempenha um papel significativo na rejeição de enxertos foram obtidas com base em estudos com camundongos *knockout* deficientes na expressão do MHC de classe II. Por exemplo, enxertos de pele de camundongos doadores que não têm o MHC de classe II são capazes de induzir respostas das células T $CD4^+$ no receptor (i.e., restritas ao MHC de classe II) aos peptídeos derivados das moléculas do MHC de classe I do doador. Nesses experimentos, as moléculas do MHC de classe I do doador são processadas e apresentadas pelas moléculas de classe II em APCs do receptor e estimulam as células T auxiliares do receptor. Também foram obtidas evidências de que a apresentação indireta do antígeno pode contribuir para a rejeição crônica de aloenxertos humanos. As células T $CD4^+$ de coração e fígado dos receptores de aloenxertos reconhecem e são ativadas por peptídeos derivados do MHC de doadores apresentados pelas próprias APCs do paciente.

Ativação e Funções Efetoras dos Linfócitos T Alorreativos

Quando reconhecem aloantígenos, os linfócitos se tornam ativados para proliferar, diferenciar-se e executar funções efetoras que podem danificar os enxertos. As etapas de ativação são semelhantes àquelas descritas para os linfócitos que reagem aos antígenos microbianos.

Ativação de Linfócitos T Alorreativos

A resposta das células T a um enxerto de órgãos pode ser iniciada nos linfonodos que drenam o enxerto (Fig. 17.6). A maioria dos órgãos contém APCs residentes, tais como as células dendríticas e, consequentemente, o transplante desses órgãos para um receptor alogênico fornece APCs que expressam as moléculas de MHC do doador, bem como coestimuladores. Essas APCs dos doadores podem migrar para os linfonodos regionais e apresentar, em sua superfície, moléculas do MHC de classe I ou classe II alogênicas não processadas às células T $CD8^+$ e $CD4^+$ do receptor, respectivamente (alorreconhecimento direto do MHC). As células dendríticas do receptor podem também migrar para o enxerto, adquirir aloantígenos e transportá-los de volta para os linfonodos drenantes, onde são exibidos (via indireta). A conexão entre os vasos linfáticos nos aloenxertos e os linfonodos do receptor é cirurgicamente interrompida durante o processo de transplante, sendo provavelmente restabelecida pelo crescimento de novos canais linfáticos em resposta a estímulos inflamatórios produzidos durante a transferência do enxerto. Os linfócitos *naive* $CD4^+$ e $CD8^+$ que normalmente trafegam através do linfonodo encontram esses aloantígenos e são induzidos a proliferar e diferenciar-se em células T auxiliares e linfócitos T citotóxicos (CTLs, do inglês, *cytotoxic T lymphocytes*) efetores. Esse processo é algumas vezes chamado sensibilização aos aloantígenos. As células T efetoras migram de volta para o enxerto e medeiam a rejeição por mecanismos discutidos adiante.

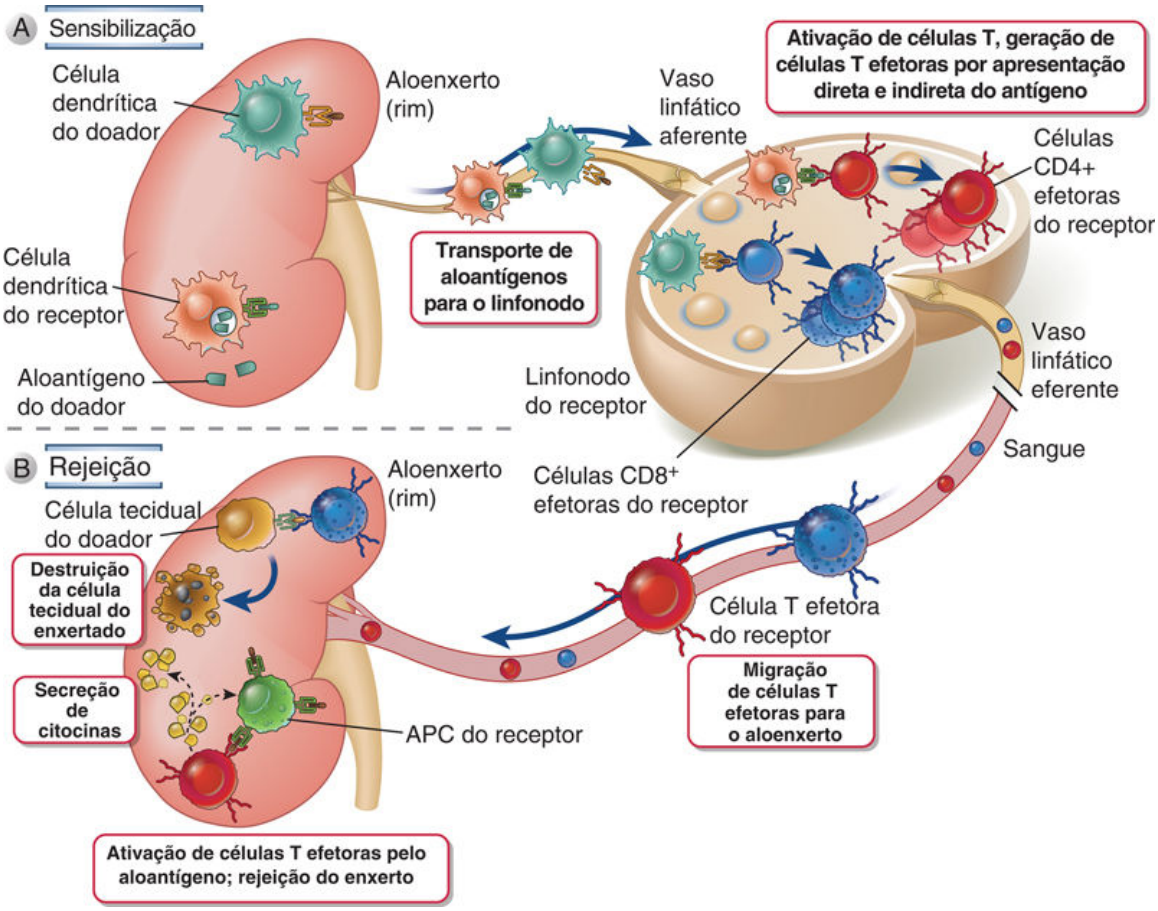


FIGURA 17.6 Ativação de células T alorreativas.
A, No caso do alorreconhecimento direto, as células dendríticas do doador no aloenxerto migram para tecidos linfoides secundários, onde apresentam diretamente as moléculas de MHC alogênicas para as células T do hospedeiro. Somente as células T $CD8^+$ que reconhecem o MHC de classe I do doador são mostradas, mas células T $CD4^+$ podem também reconhecer diretamente o MHC de classe II do doador. No caso do alorreconhecimento indireto, as células dendríticas do receptor que entraram no aloenxerto transportam as proteínas do MHC do doador para os tecidos linfoides secundários e apresentam os peptídeos derivados destas proteínas do MHC a células T alorreativas do hospedeiro. Isso é mostrado para as células T $CD4^+$ e o reconhecimento indireto do MHC alogênico por células T $CD8^+$ é provavelmente menos importante. Após o alorreconhecimento direto e indireto, as células T se tornam ativadas e se diferenciam em células T efetoras $CD4^+$ auxiliares e CTL $CD8^+$. **B,** As células T efetoras alorreativas migram para o aloenxerto, são reativadas pelos aloantígenos e medeiam a lesão. No enxerto, o reconhecimento direto do MHC de classe I alogênico por CTL $CD8^+$ é necessário para a destruição de células parenquimais do enxerto, porque estas células expressam somente

o MHC alogênico. Ao contrário, as células T auxiliares $CD4^+$ que podem reconhecer o MHC alogênico de classe II diretamente e indiretamente podem ser ativados por APCs do doador ou do receptor, respectivamente, e em ambos os casos, promover inflamação que provoca lesão no enxerto.

Como mencionado anteriormente, muitas das células T que respondem aos antígenos do MHC alogênico em um novo enxerto são células T de memória que fazem reação cruzada e que são previamente geradas contra antígenos ambientais antes do transplante. Ao contrário das células T *naive*, as células T de memória podem não precisar encontrar os antígenos apresentados por células dendríticas nos linfonodos para serem ativadas, podendo migrar diretamente para os enxertos em que podem ser ativadas pelas APCs ou por células teciduais exibindo o aloantígeno.

A resposta de células T alorreativas a moléculas de MHC estranho pode ser avaliada *in vitro* pela **reação mista de linfócitos** (MLR, do inglês, *mixed lymphocyte reaction*), na qual linfócitos provenientes de dois indivíduos geneticamente distintos são misturados em uma cultura celular. As células T de um indivíduo se tornam ativadas pelo reconhecimento das moléculas de MHC alogênicas do outro indivíduo. A MLR foi clinicamente utilizada no passado como um teste preditivo da rejeição de enxertos mediada por células T, e como modelo *in vitro* para o estudo de mecanismos de alorreatividade, mas atualmente tem significado principalmente histórico.

Papel da Coestimulação nas Respostas de Células T aos Aloantígenos

Além do reconhecimento do aloantígeno, a coestimulação de células T, primariamente por moléculas B7 nas APCs, é importante para a ativação de células T alorreativas. A coestimulação é provavelmente mais importante para ativar células T alorreativas *naive*, entretanto, mesmo respostas de células T de memória podem ser amplificadas pela coestimulação. A rejeição dos aloenxertos e a estimulação de células T alorreativas em uma MLR podem ser, ambas, inibidas por agentes que bloqueiam as moléculas B7. Os aloenxertos sobrevivem por períodos mais longos quando são transplantados em camundongos *knockouts* com ausência de B7-1 (CD80) e B7-2 (CD86) em comparação com o transplante em receptores normais. Como discutiremos mais tarde, o bloqueio da coestimulação fornecida por B7 é também uma estratégia terapêutica para inibir a rejeição de enxertos humanos.

A exigência para a coestimulação conduz à interessante pergunta de por que esses coestimuladores são expressos pelas APCs do enxerto na ausência de infecção, um requisito previamente discutido como o estímulo fisiológico para a expressão de coestimuladores (Capítulo 9). Uma possibilidade é que a resposta imune inata à lesão isquêmica de algumas células no enxerto, discutida anteriormente, resulta em aumento da expressão de coestimuladores nas APCs.

Funções Efetoras das Células T Alorreativas

As células T CD4+ e CD8+ alorreativas ativadas por aloantígenos do enxerto causam rejeição por mecanismos distintos (Fig. 17.6). As células T $CD4^+$ auxiliares diferenciam-se em células efetoras produtoras de citocinas que danificam os enxertos por meio da inflamação mediada por citocinas, semelhante a uma reação de hipersensibilidade do tipo tardia (DTH, do inglês, *delayed-type hypersensitivity*) (Capítulos 10 e 19). As células T $CD8^+$ alorreativas diferenciam-se em CTLs, que matam as células do enxerto.

Somente os CTLs gerados pelo alorreconhecimento direto podem matar as células do enxerto, enquanto os CTLs e as células T auxiliares geradas tanto pelo reconhecimento direto quanto indireto do aloantígeno podem causar dano mediado por citocinas aos enxertos. Os CTLs $CD8^+$ gerados pelo alorreconhecimento direto de moléculas do MHC do doador em APCs desse doador podem reconhecer as mesmas moléculas do MHC nas células do parênquima do enxerto e matar essas células. As células T podem também secretar citocinas que causam inflamações prejudiciais. Em contrapartida, quaisquer CTLs $CD8^+$ gerados em resposta ao reconhecimento indireto do MHC alogênico são restritos ao reconhecimento de peptídeos presentes nessas moléculas de MHC alogênico ligados às moléculas de MHC do receptor (próprias). Portanto, as células T são incapazes de matar o enxerto estranho, porque este não expressa moléculas de MHC do receptor. Quando as células T $CD4^+$ efetoras são geradas pelo reconhecimento direto ou indireto do MHC alogênico, o principal mecanismo de rejeição é a inflamação causada pelas citocinas produzidas por células T efetoras. O mesmo é verdade para as células T $CD8^+$ que podem ser ativadas pela via indireta. Presumivelmente, as células efetoras ativadas pela via indireta infiltram-se no enxerto e reconhecem os peptídeos das moléculas de MHC do enxerto exibidas pelas APCs do hospedeiro que também entraram no enxerto.

Ativação das Células B Alorreativas, Produção e Funções dos Aloanticorpos

Os anticorpos contra os antígenos do enxerto, chamados anticorpos doador-específicos, também contribuem para a rejeição. Esses aloanticorpos de alta afinidade são produzidos principalmente pela ativação de células B alorreativas dependentes de células T auxiliares, muito semelhantes aos anticorpos contra outros antígenos proteicos (Capítulo 12). Os antígenos mais frequentemente reconhecidos por aloanticorpos são as moléculas de HLA do doador, incluindo as proteínas de classe I e de classe II do MHC. A provável sequência de eventos que levam à geração dessas células produtoras de aloanticorpos é a de linfócitos B *naive* que reconhecem as moléculas de MHC alogênicas, internalizam e processam essas proteínas, e apresentam os seus peptídeos derivados às células T auxiliares que foram previamente ativadas pelos mesmos peptídeos apresentados por células dendríticas. Assim, a ativação de células B alorreativas é um exemplo da apresentação indireta de aloantígenos. Além disso, anticorpos doador-específicos contra aloantígenos não HLA também contribuem para a rejeição.

Os anticorpos alorreativos produzidos em receptores de enxertos exercem os mesmos mecanismos efetores que os anticorpos utilizam para combater infecções, incluindo a ativação do complemento, e a ativação de neutrófilos, macrófagos e células NK mediada pela ligação ao receptor Fc. Como os antígenos do MHC são expressos nas células endoteliais, a maior parte do dano mediado por aloanticorpos tem como alvo a vasculatura do enxerto, como discutido na próxima seção.

Padrões e Mecanismos de Rejeição dos Aloenxertos

Até aqui, descrevemos a base molecular do reconhecimento aloantigênico e as células envolvidas no reconhecimento e respostas ao aloenxerto. Mudaremos agora para uma consideração a respeito dos mecanismos efetores responsáveis pela rejeição imunológica dos aloenxertos. Em diferentes modelos experimentais e em transplantes clínicos, as células T $CD4^+$ e $CD8^+$ alorreativas e os aloanticorpos como um todo têm se mostrado capazes de mediar a rejeição do aloenxerto. Esses diferentes efetores imunes causam a rejeição do enxerto por diferentes mecanismos, e todos os três efetores podem contribuir para a rejeição simultaneamente.

Por razões históricas, a rejeição do enxerto é classificada com base em características histopatológicas e no tempo de curso da rejeição após o transplante em vez de se basear nos mecanismos efetores imunes. Com base na experiência adquirida com transplantes renais, os padrões histopatológicos são chamados de hiperagudo, agudo e crônico. Esses padrões estão associados a diferentes mecanismos efetores imunes dominantes. Nossa discussão desses padrões de rejeição enfatizará os mecanismos imunológicos subjacentes em vez de características patológicas ou clínicas.

Rejeição Hiperaguda

A rejeição hiperaguda é caracterizada pela oclusão trombótica da vasculatura do enxerto que se inicia dentro de minutos a horas após os vasos sanguíneos do hospedeiro serem anastomosados aos vasos do enxerto, e é mediada por anticorpos preexistentes na circulação do hospedeiro que se ligam aos antígenos endoteliais do doador (Fig. 17.7A). A ligação do anticorpo ao endotélio ativa o complemento e, juntos, os produtos do anticorpo e do complemento induzem uma série de mudanças no endotélio do enxerto, as quais promovem trombose intravascular. A ativação do complemento provoca lesão das células endoteliais e exposição das proteínas da membrana basal subendotelial que ativam as plaquetas. As células endoteliais são estimuladas a secretar formas de alto peso molecular do fator de von Willebrand, que promovem a adesão e a agregação plaquetária. Tanto as células endoteliais quanto as plaquetas sofrem vesiculação da membrana, levando à descamação de

partículas lipídicas que promovem coagulação. As células endoteliais perdem os proteoglicanos de heparan sulfato da superfície celular que normalmente interagem com a antitrombina III para inibir a coagulação. Esses processos contribuem para a trombose e oclusão vasculares (Fig. 17.7A), e o órgão enxertado sofre necrose isquêmica irreversível.

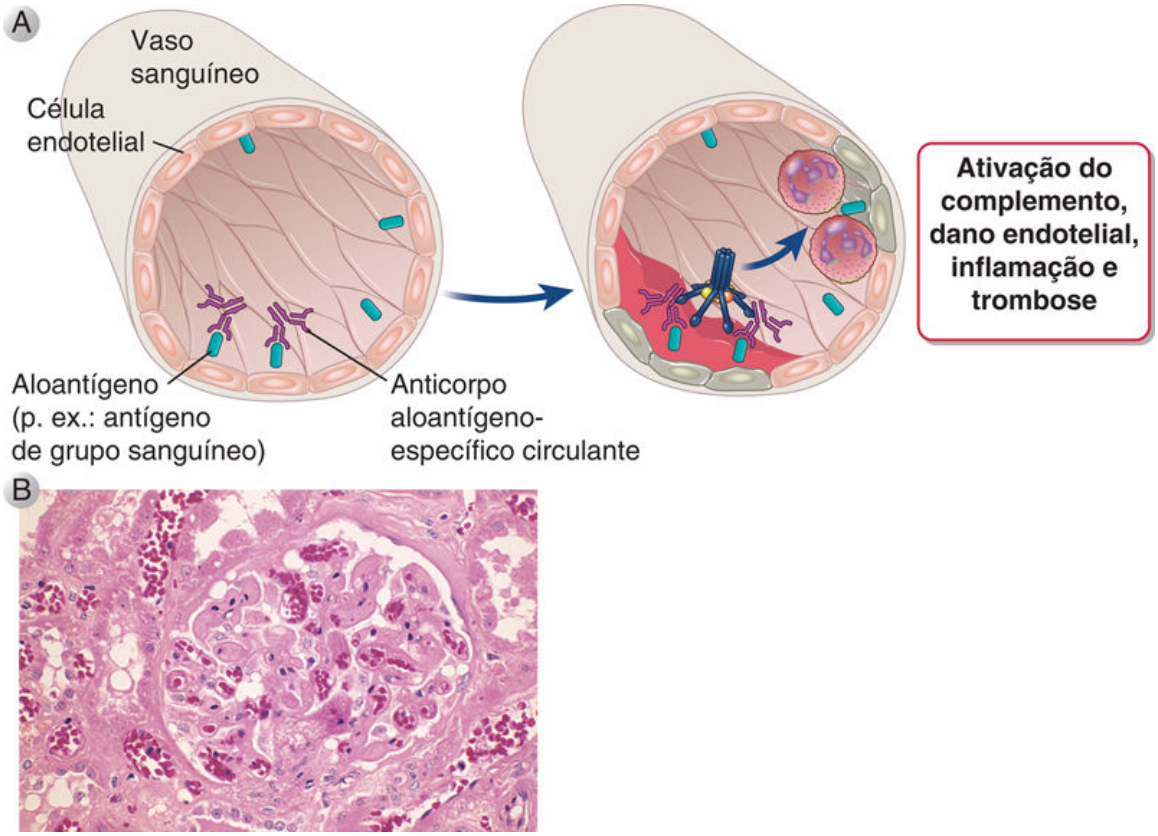


FIGURA 17.7 Rejeição hiperaguda.
A, Na rejeição hiperaguda, anticorpos pré-formados reativos contra o endotélio vascular ativam o complemento e desencadeiam rápida trombose intravascular e necrose da parede vascular. **B,** Rejeição hiperaguda de um aloenxerto renal com dano endotelial, trombos de plaquetas e trombina, e infiltração inicial de neutrófilos em um glomérulo. (**B,** Cortesia do Dr. Helmut Rennke, Department of Pathology, Brigham and Women's Hospital.)

Nos primórdios dos transplantes, a rejeição hiperaguda era muitas vezes mediada por aloanticorpos imunoglobulina M (IgM) preexistentes, específicos para os carboidratos dos antígenos do grupo sanguíneo ABO expressos em hemácias e células endoteliais. Esses anticorpos naturais estão presentes na maioria dos indivíduos (discutido adiante). A rejeição

hiperaguda mediada por anticorpos antiABO é extremamente rara atualmente, porque todos os pares doador e receptor são selecionados de maneira a terem tipos ABO compatíveis. A rejeição hiperaguda causada por anticorpos naturais específicos para uma variedade de antígenos que diferem entre as espécies é uma barreira essencial para o xenotransplante e limita o uso de órgãos animais para transplantes humanos.

Atualmente, os raros casos de rejeição hiperaguda dos aloenxertos que ainda ocorrem são mediados por anticorpos IgG dirigidos contra aloantígenos proteicos, tais como as moléculas de MHC do doador, ou contra aloantígenos menos definidos expressos nas células endoteliais vasculares. Tais anticorpos geralmente surgem como resultado de exposição prévia a aloantígenos por transfusão sanguínea, transplante anterior ou múltiplas gestações. Se o nível desses anticorpos alorreativos é baixo, a rejeição hiperaguda pode se desenvolver lentamente durante vários dias, mas seu início ainda ocorrerá mais cedo do que a rejeição aguda típica. Como discutiremos mais adiante, os pacientes que necessitam de enxertos são rotineiramente monitorados antes do transplante para verificar a presença de anticorpos que se ligam a células de um possível doador de órgãos a fim de evitar a rejeição hiperaguda.

Em raros casos nos quais os enxertos têm de ser transferidos entre doadores e receptores ABO-incompatíveis, a sobrevida do enxerto pode ser melhorada por meio de rigorosa depleção de anticorpos e de células B. Algumas vezes, se o enxerto não for rapidamente rejeitado, ele sobrevive mesmo na presença de anticorpos antienxerto. Um possível mecanismo dessa resistência à rejeição hiperaguda é um aumento na expressão de proteínas reguladoras do complemento em células endoteliais do enxerto, uma adaptação benéfica do tecido chamada acomodação.

Rejeição Aguda

A rejeição aguda é um processo de lesão do parênquima e dos vasos sanguíneos do enxerto mediada por células T alorreativas e anticorpos. Antes dos fármacos imunossupressores modernos, a rejeição aguda frequentemente se iniciava vários dias a poucas semanas após o transplante. O tempo para o início da rejeição aguda reflete o período necessário para geração de células T efetoras alorreativas e anticorpos em resposta ao enxerto. Na prática clínica atual, os episódios de rejeição aguda podem ocorrer muito mais tarde, mesmo anos depois do transplante, se a imunossupressão for reduzida por qualquer motivo. Embora os padrões de rejeição aguda sejam divididos em celular (mediado

por células T) e humoral (mediado por anticorpos), ambos normalmente coexistem em um órgão que sofre a rejeição aguda.

Rejeição Celular Aguda

Os principais mecanismos de rejeição celular aguda são a morte das células do parênquima e das células endoteliais do enxerto mediada por CTL, e a inflamação causada pelas citocinas produzidas por células T auxiliares (Fig. 17.8A). Em exames histológicos de aloenxertos renais, em que esse tipo de rejeição está mais bem caracterizado, há infiltrados de linfócitos e macrófagos (Fig. 17.8B). Nesses aloenxertos renais, os infiltrados podem envolver os túbulos (chamado tubulite), com necrose tubular associada, e os vasos sanguíneos (chamado endotelite), com necrose das paredes dos capilares e pequenas artérias. Os infiltrados celulares presentes nos enxertos passando por rejeição celular aguda incluem tanto células T auxiliares $CD4^+$ quanto os CTLs $CD8^+$ específicos para aloantígenos do enxerto e ambos os tipos de células T podem causar lesão das células do parênquima e endoteliais. As células T auxiliares incluem células Th1 secretoras de IFN-γ e de fator de necrose tumoral (TNF, do inglês, *tumor necrosis fator*) e células Th17 secretoras de interleucina-17 (IL-17), ambas contribuindo para a ativação de macrófagos e do endotélio e para o dano inflamatório ao órgão. Experimentalmente, a transferência adotiva de células T $CD4^+$ auxiliares alorreativas ou de CTLs $CD8^+$ podem causar a rejeição celular aguda do enxerto em camundongos receptores.

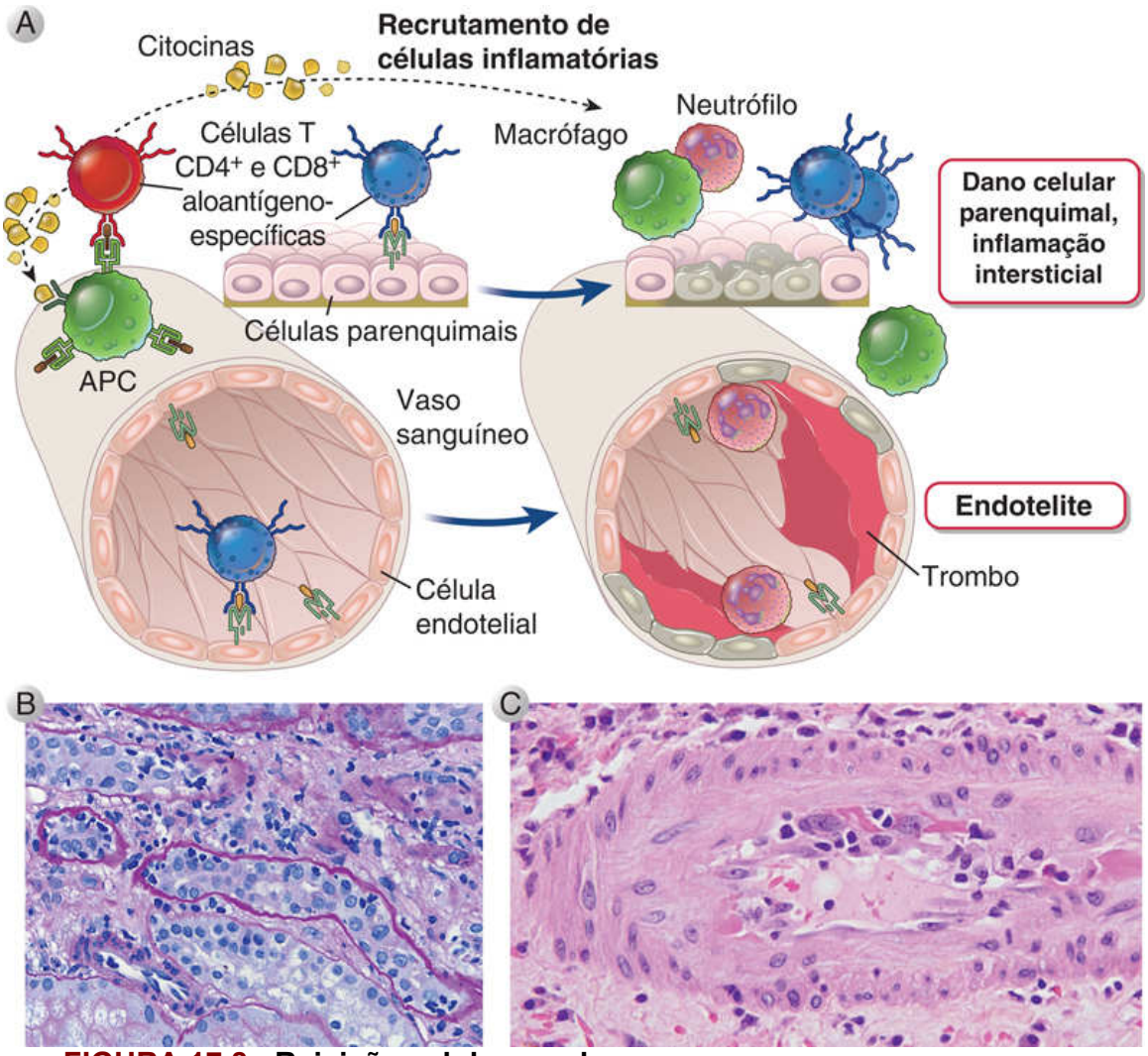


FIGURA 17.8 Rejeição celular aguda.

A, Na rejeição celular aguda, os linfócitos T $CD4^+$ ou $CD8^+$ reativos aos aloantígenos nas células endoteliais dos vasos sanguíneos e células parenquimais medeiam a lesão a esses tipos celulares. **B,** Rejeição celular aguda de um rim por células inflamatórias no tecido conectivo ao redor dos túbulos e entre as células epiteliais dos túbulos. **C,** Inflamação de um vaso sanguíneo (vasculite) em uma rejeição celular aguda, com lesão do endotélio por células inflamatórias. (**B,** Cortesia do Dr. Helmut Rennke, Department of Pathology, Brigham and Women's Hospital, **C,** Dr. Zoltan Laszik, Department of Pathology, University of California, San Francisco.)

Rejeição Aguda Mediada por Anticorpos

Os aloanticorpos causam rejeição aguda por ligação aos aloantígenos, principalmente as moléculas de HLA, em células endoteliais vasculares,

causando lesão endotelial e trombose intravascular que resultam na destruição do enxerto (Fig. 17.9A). A ligação dos aloanticorpos à superfície das células endoteliais desencadeia a ativação local do complemento, que provoca a lise das células, o recrutamento e a ativação de neutrófilos, e a formação de trombos. Os aloanticorpos também podem se acoplar a receptores Fc em neutrófilos e células NK, as quais então destroem as células endoteliais. Além disso, a ligação do aloanticorpo à superfície endotelial pode alterar diretamente a função endotelial por induzir sinais intracelulares que aumentam a expressão de moléculas pró-inflamatórias e pró-coagulantes de superfície.

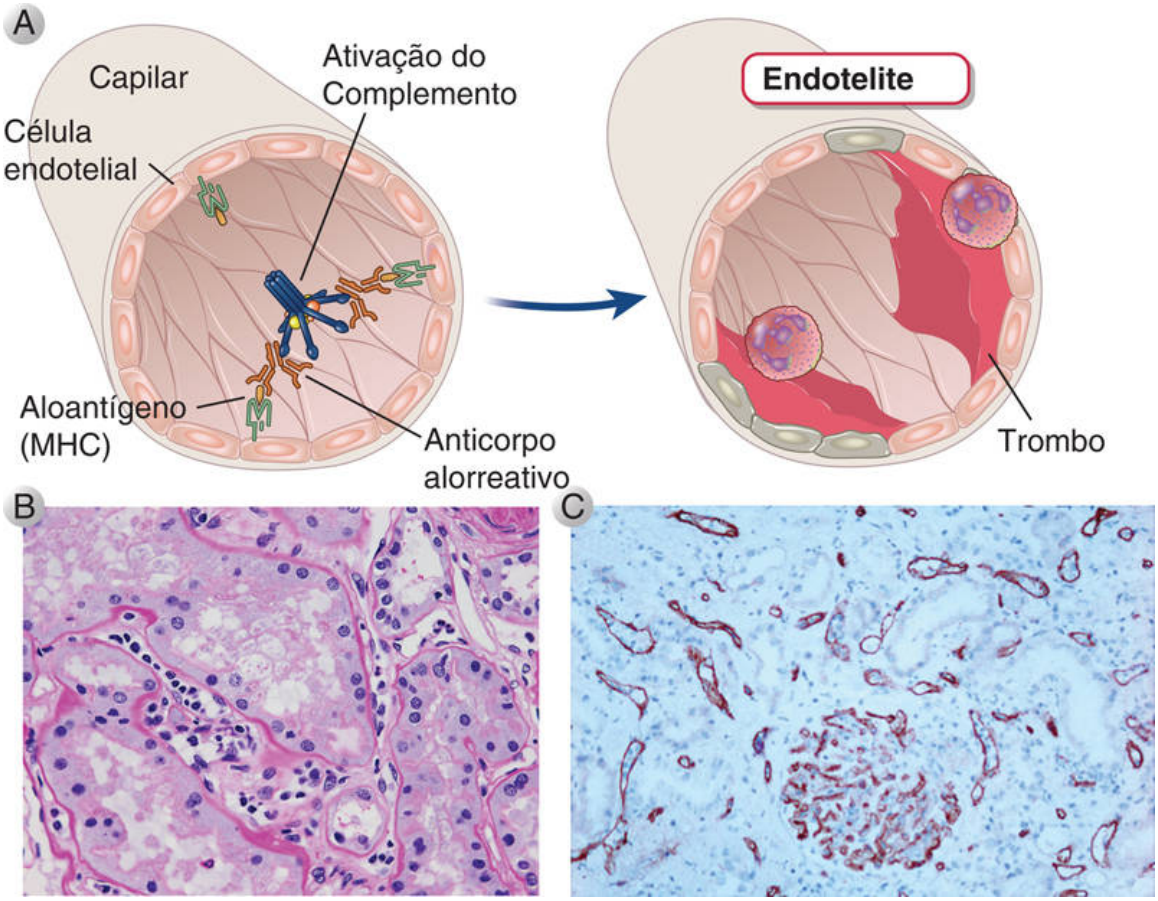


FIGURA 17.9 Rejeição aguda mediada por anticorpos. **A,** Anticorpos alorreativos formados após o transplante podem contribuir para a lesão parequimal e vascular. **B,** Rejeição aguda mediada por anticorpos de um aloenxerto renal com células inflamatórias nos capilares peritubutulares. **C,** Deposição do componente C4d do complemento em capilares na rejeição mediada por anticorpos, revelada por imuno-histoquímica com marcação em marrom. (**B** e **C,** Cortesia do Dr. Zoltan Laszik, Department of Pathology, University of California, San Francisco.)

As características histológicas da rejeição aguda de aloenxertos renais mediada por anticorpos são a inflamação aguda de glomérulos e de capilares peritubulares com trombose capilar focal (Fig. 17.9B). A identificação imuno-histoquímica do fragmento C4d do complemento em capilares de aloenxertos renais é usada clinicamente como um indicador de ativação da via clássica do complemento e de rejeição humoral (Fig. 17.9C).

Rejeição Crônica e Vasculopatia do Enxerto

À medida que a terapia para a rejeição aguda foi aperfeiçoada, a maior causa da falha de aloenxertos de órgãos vascularizados tornou-se a rejeição crônica. Desde 1990, a sobrevida de 1 ano dos aloenxertos renais foi maior do que 90%, mas a sobrevivência de 10 anos manteve-se em cerca de 60%, apesar dos avanços na terapia imunossupressora. A rejeição crônica desenvolve-se insidiosamente durante meses ou anos e pode ou não ser precedida por episódios clinicamente reconhecidos de rejeição aguda. A rejeição crônica de diferentes órgãos transplantados está associada a alterações patológicas distintas. No rim e no coração, a rejeição crônica resulta em oclusão vascular e fibrose intersticial. Os transplantes de pulmão passando por rejeição crônica apresentam espessamento das vias aéreas inferiores (chamado bronquiolite obliterante) enquanto transplantes de fígado apresentam ductos biliares fibróticos e não funcionais.

A lesão dominante da rejeição crônica em enxertos vascularizados é a oclusão arterial, como resultado da proliferação de células musculares lisas da íntima, e os enxertos eventualmente falham principalmente por causa do dano isquêmico resultante (Fig. 17.10A). As alterações arteriais são chamadas de vasculopatias do enxerto ou arteriosclerose acelerada do enxerto (Fig. 17.10B). A vasculopatia do enxerto é frequentemente observada em aloenxertos cardíacos e renais que entraram em falência e podem se desenvolver em qualquer transplante de órgão vascularizado dentro de 6 meses a um ano após o transplante. Os prováveis mecanismos subjacentes às lesões vasculares oclusivas da rejeição crônica são a ativação de células T alorreativas e a secreção de IFN-γ e outras citocinas que estimulam a proliferação de células musculares lisas vasculares. Conforme as lesões arteriais de arteriosclerose do enxerto progridem, o fluxo sanguíneo para o parênquima do enxerto é comprometido e o parênquima é lentamente substituído por tecido fibrótico não funcional. A fibrose intersticial observada na rejeição crônica pode também ser uma resposta de reparo ao dano celular do parênquima causado por repetidos ataques de rejeição aguda mediada por anticorpos ou de rejeição celular, isquemia perioperatória, efeitos tóxicos de fármacos imunossupressores e mesmo infecções virais crônicas. A rejeição crônica leva à insuficiência cardíaca congestiva ou arritmias em pacientes de transplantes cardíacos, ou à perda da função glomerular e tubular e insuficiência renal em pacientes transplantados renais.

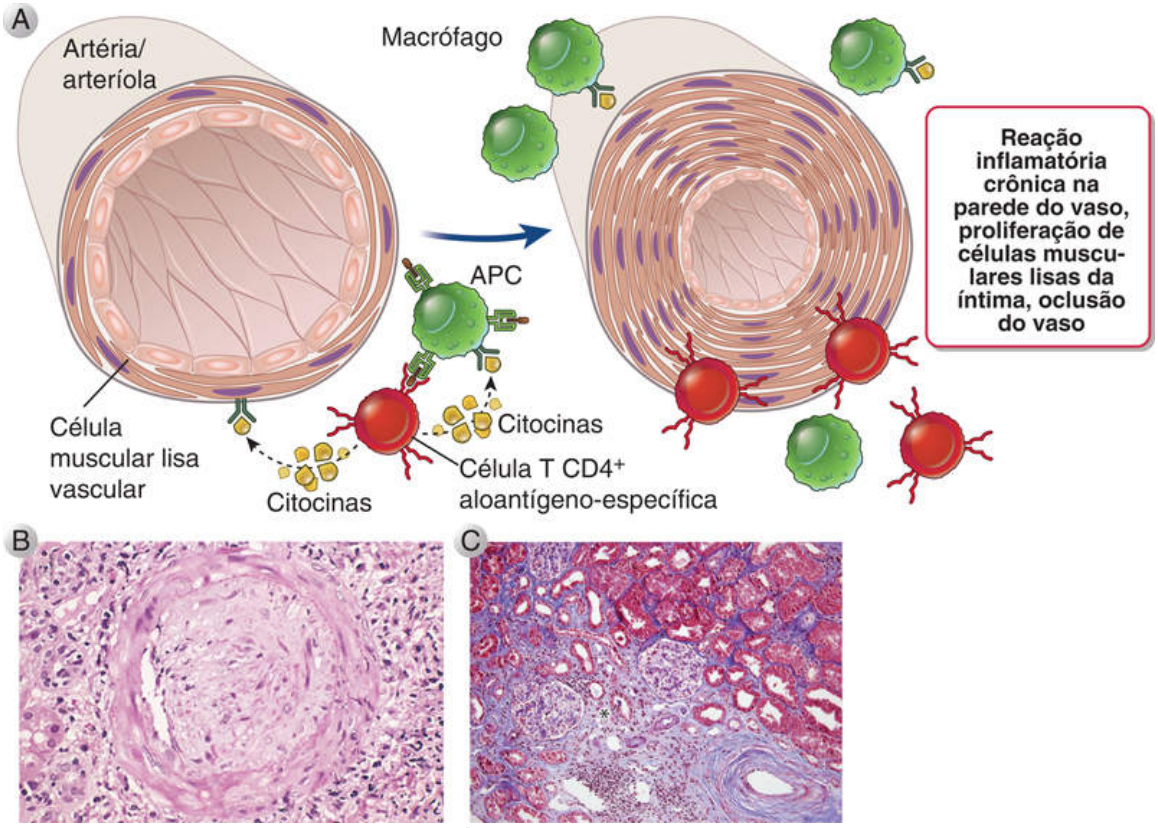


FIGURA 17.10 Rejeição crônica.

A, Na rejeição crônica com arteriosclerose do enxerto, a lesão à parede do vaso induz a proliferação de células musculares lisas da íntima e oclusão luminal. Essa lesão pode ser causada por uma reação inflamatória crônica aos aloantígenos da parede vascular. **B,** Rejeição crônica de um aloenxerto renal com arteriosclerose do enxerto. O lúmen vascular é substituído por um acúmulo de células musculares lisas e tecido conectivo na íntima do vaso. **C,** Fibrose e perda dos túbulos em um rim com rejeição crônica (*região inferior esquerda*) adjacente a um rim relativamente normal (*região superior direita*). As áreas em azul mostram fibrose e uma artéria com arteriosclerose no enxerto está presente (*região inferior direita*). (**B,** Cortesia do Dr. Helmut Rennke, Department of Pathology, Brigham and Women's Hospital; **C,** Cortesia do Dr. Zoltan Laszik, Department of Pathology, University of California, San Francisco.)

Prevenção e Tratamento da Rejeição dos Aloenxertos

Se o receptor de um aloenxerto tem um sistema imunológico totalmente funcional, o transplante quase invariavelmente resulta em alguma forma de rejeição. As estratégias utilizadas na prática clínica e em modelos experimentais para evitar ou retardar a rejeição são a imunossupressão geral e a redução da força da reação alogênica específica. Um objetivo importante da pesquisa em transplantes é encontrar maneiras de induzir tolerância doador-específica, que permitiria a sobrevivência dos enxertos sem a realização de imunossupressão inespecífica.

Métodos para Reduzir a Imunogenicidade dos Aloenxertos

Os órgãos sólidos usados em transplantes se originam de doadores vivos e falecidos, e a sobrevivência do enxerto após o transplante varia em função da fonte. A maior barreira para o transplante como opção terapêutica para falência de órgãos é a disponibilidade de órgãos. Atualmente, nos Estados Unidos, há aproximadamente 120 mil pessoas aguardando um transplante de órgão que lhes salve a vida, mas há apenas cerca de 10 mil doadores. Doadores vivos podem doar um rim, um lobo de um pulmão e partes do fígado, pâncreas ou intestino, porque podem permanecer saudáveis após esses tipos de doações. Doadores vivos podem ser geneticamente relacionados ao receptor, incluindo irmãos, pais, crianças (com mais de 18 anos de idade), tias, tios, primos, primas e sobrinhos. Outros doadores vivos podem ser pessoas não relacionadas. Como discutimos, a rejeição imunológica do enxerto tem como alvo proteínas alogênicas codificadas por alelos polimórficos do receptor que não são compartilhadas pelo doador. Doadores relacionados irão compartilhar mais alelos de genes polimórficos, incluindo genes do MHC, do que doadores não relacionados, e isso reduzirá a incidência e a gravidade de episódios de rejeição (discutidos mais adiante). Por exemplo, como os genes do MHC são herdados como haplótipos ligados, há 25% de probabilidade de que dois irmãos tenham genes do MHC idênticos, enquanto a probabilidade de um doador e um receptor não relacionados terem genes idênticos do MHC é extremamente baixa.

Doadores falecidos, chamados doadores cadáveres, são fontes de qualquer órgão transplantável e a única fonte de órgãos que não podem ser removidos de um doador vivo, como o coração. Muitos doadores falecidos sofrem morte cerebral, com perda completa e irreversível de qualquer função nobre do cérebro, mas os demais órgãos podem ser mantidos vivos no corpo por meio de suporte vital cardiorrespiratório até pouco antes da coleta do órgão. Menos frequentemente, os órgãos são recuperados de pessoas logo em seguida à parada irreversível da circulação e da respiração, como após os traumatismos. A sobrevivência de enxertos de doadores falecidos é, em média, menor do que a sobrevivência de enxertos de doadores vivos relacionados ou não relacionados, porque ocorre mais lesão isquêmica nos órgãos removidos após a morte do doador. Ademais, a maioria dos doadores falecidos não são relacionados aos receptores, e enxertos desse tipo normalmente expressam mais antígenos distintos daqueles do receptor e podem estimular respostas de rejeição mais fortes do que as estimuladas por doadores vivos.

No transplante humano, a principal estratégia para reduzir a imunogenicidade do enxerto tem sido a de minimizar as diferenças alogênicas entre o doador e o receptor. Vários testes clínicos de laboratório são realizados rotineiramente para reduzir o risco de rejeição imunológica de enxertos. Estes incluem a tipagem sanguínea ABO; a determinação de alelos de HLA expressos em células do doador e do receptor, chamada tipagem do tecido; a detecção dos anticorpos pré-formados no receptor que reconhecem o HLA e outros antígenos representativos da população do doador; e a detecção de anticorpos pré-formados do receptor que se ligam aos antígenos dos leucócitos de um doador identificado, chamada prova cruzada. Nem todos esses testes são feitos em todos os tipos de transplantes. Vamos agora resumir cada um deles e discutir seu significado.

Para evitar a rejeição hiperaguda, os antígenos do grupo sanguíneo ABO do doador do enxerto são selecionados para serem compatíveis com o receptor. Esse teste é utilizado uniformemente nos transplantes renais e cardíacos, porque os enxertos renais e de coração normalmente não sobrevivem se houver incompatibilidade ABO entre o doador e o receptor. Os anticorpos naturais IgM específicos para os antígenos do grupo sanguíneo ABO alogênico causarão uma rejeição hiperaguda. A tipagem sanguínea é realizada por meio da mistura das hemácias do sangue de um paciente com soros padronizados contendo anticorpos anti-A e anti-B. Se o paciente expressa qualquer antígeno de grupo sanguíneo, o soro específico para o antígeno irá aglutinar as hemácias. A biologia do sistema de grupo

sanguíneo ABO é discutida mais adiante neste capítulo, no contexto da transfusão sanguínea.

No transplante renal, quanto maior for o número de alelos de MHC compatíveis entre o doador e o receptor, melhor a sobrevida do enxerto (Fig. 17.11). A compatibilidade de HLA teve uma influência mais profunda na sobrevida do enxerto antes dos fármacos imunossupressores modernos serem rotineiramente utilizados. Entretanto, os dados atuais ainda mostram uma sobrevida significativamente maior dos enxertos quando doador e receptor têm menos incompatibilidade de alelos do HLA. A experiência clínica do passado, empregando métodos de tipagem mais antigos demonstrou que, de todos os *loci* de classe I e de classe II do MHC, a compatibilidade de HLA-A, HLA-B e HLA-DR é a mais importante para predizer a sobrevida dos aloenxertos renais. (O HLA-C não é tão polimórfico quanto HLA-A ou HLA-B, enquanto o HLA-DR e o HLA-DQ estão em desequilíbrio de ligação, de modo que a compatibilidade do *locus* DR frequentemente também representa compatibilidade do *locus* DQ.) Apesar de os protocolos atuais de tipagem em muitos centros incluírem os *loci* HLA-C, -DQ e -DP, a maior parte dos dados disponíveis para predição dos resultados do enxerto se referem apenas às incompatibilidades de HLA-A, HLA-B e HLA-DR. Como dois alelos expressos codominantemente são herdados para cada um desses genes de HLA, é possível haver de zero a seis incompatibilidades HLA desses três *loci* entre o doador e o receptor. A ausência de incompatibilidade antigênica significa a melhor sobrevida dos enxertos de doadores vivos e enxertos com uma incompatibilidade antigênica significa sobrevida ligeiramente pior. A sobrevida de enxertos com duas a seis incompatibilidades de HLA é significativamente pior do que a de enxertos com nenhuma ou uma incompatibilidade antigênica. A incompatibilidade de dois ou mais genes de HLA tem um impacto ainda maior sobre os aloenxertos renais de doadores cadáveres (não relacionados). Portanto, as tentativas feitas para reduzir o número de diferenças em alelos de HLA expressos em células do doador e do receptor apresentarão um efeito modesto na redução da probabilidade de rejeição.

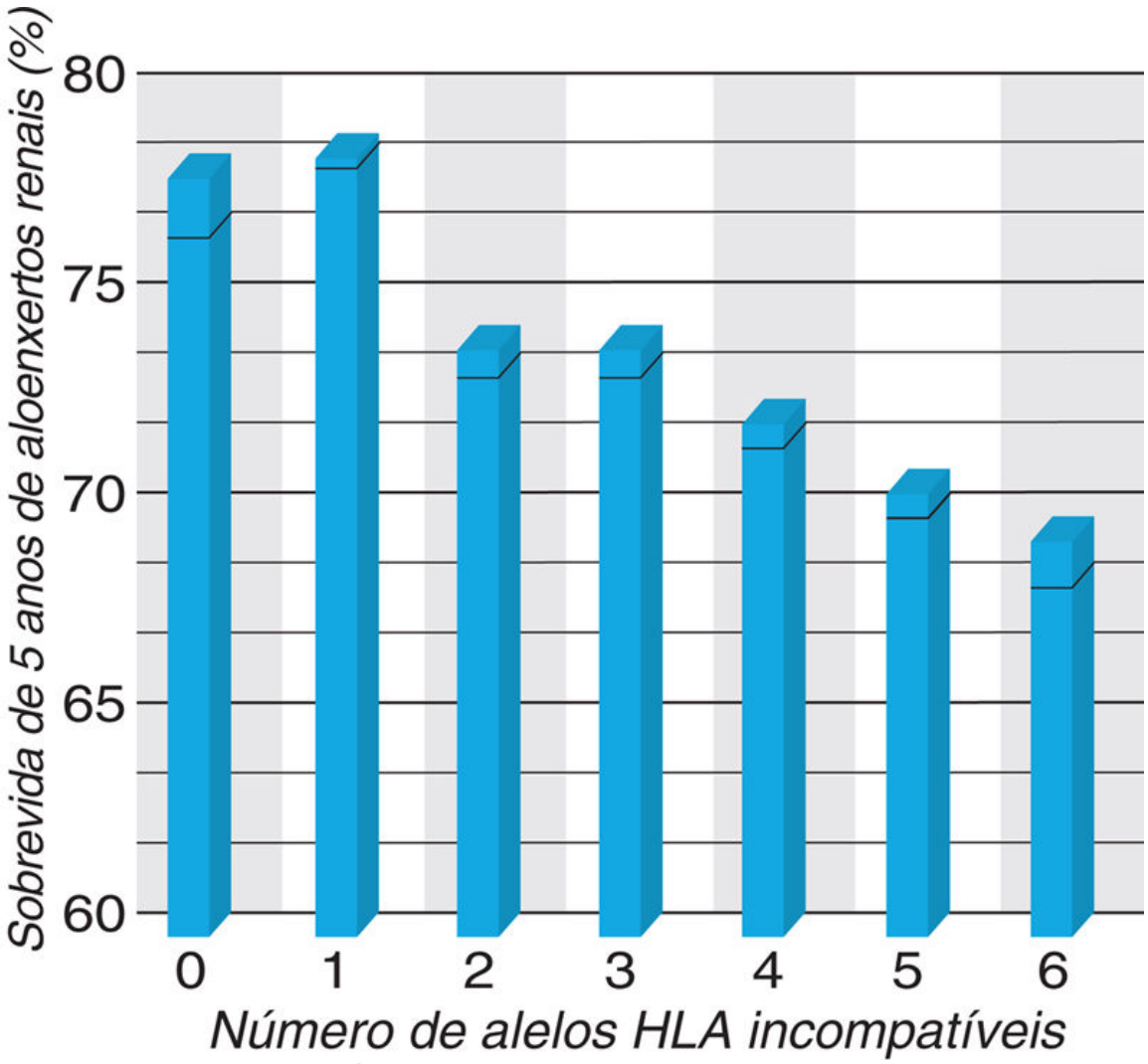


FIGURA 17.11 Influência da compatibilidade do MHC na sobrevida do enxerto.
Compatibilidade de alelos do MHC entre o doador e o receptor melhora significativamente a sobrevivência do enxerto renal. Os dados mostrados referem-se a enxertos de doadores falecidos (cadáveres). A compatibilidade de HLA tem menos impacto na sobrevida dos aloenxertos renais de doadores vivos e alguns alelos do MHC são mais importantes do que outros na determinação do resultado. (Dados de SRTR annual report 2012. Disponível em http://www.srtr.org/. Acessado em julho de 2013.)

A avaliação da compatibilidade de HLA nos transplantes renais é possível porque os rins dos doadores podem ser armazenados por até 72 horas antes de serem transplantados e os pacientes que necessitam de um aloenxerto renal podem ser mantidos em diálise até que um órgão bastante compatível esteja disponível. No caso dos transplantes de coração e fígado,

a preservação dos órgãos é mais difícil, e os potenciais receptores normalmente estão em estado crítico. Por essas razões, a tipagem do HLA não é considerada no pareamento de potenciais doadores e receptores, e a escolha do doador e do receptor baseia-se na compatibilidade do grupo sanguíneo ABO, em outras medidas de compatibilidade imunológica descritas mais adiante e na compatibilidade anatômica. A escassez de doadores de coração, a necessidade emergencial de transplante e o sucesso da imunossupressão se sobrepõem a qualquer benefício da redução da incompatibilidade de HLA entre doador e receptor. Como será discutido mais adiante, em transplantes de células-tronco hematopoiéticas, a compatibilidade de HLA é essencial para reduzir o risco da doença do enxerto-*versus*-hospedeiro (GVHD, do inglês, *graft-versus-host disease*).

A maioria das determinações do haplótipo do HLA é realizada agora pela reação em cadeia da polimerase (PCR, do inglês, *polymerase chain reaction*), substituindo métodos sorológicos mais antigos. Os genes do MHC podem ser amplificados pelo método da PCR com o uso de *primers* que se ligam às sequências não polimórficas nas terminações 5′ e 3′ dos éxons que codificam as regiões polimórficas das moléculas do MHC de classe I e de classe II. O segmento de DNA amplificado pode então ser sequenciado. Assim, a sequência real de nucleotídeos e, consequentemente, a sequência de aminoácidos prevista pode ser determinada diretamente para os alelos do MHC de qualquer célula, fornecendo uma tipagem molecular precisa do tecido. Com base nesses esforços de sequenciamento do DNA, a nomenclatura dos alelos de HLA mudou para refletir a identificação de diversos alelos não distinguidos pelos métodos sorológicos anteriores. Cada alelo definido pela sequência tem pelo menos um número de quatro dígitos, mas alguns alelos requerem seis ou oito dígitos para uma definição precisa. Os primeiros dois dígitos geralmente correspondem ao alotipo mais antigo definido sorologicamente enquanto o terceiro e o quarto dígitos indicam os subtipos. Os alelos com diferenças nos quatro primeiros dígitos codificam proteínas com diferentes aminoácidos. Por exemplo, HLA-DRB1*1301 é o alelo 01 definido pela sequência da família de genes sorologicamente definida HLA-DR13, que codifica a proteína β1 do HLA-DR.

Os pacientes que necessitam de aloenxertos também são testados quanto à presença de anticorpos pré-formados contra as moléculas de MHC do doador ou outros antígenos da superfície celular. Dois tipos de testes são realizados para detectar esses anticorpos. No teste do painel reatividade de anticorpos (PRA), os pacientes à espera do transplante de órgãos são testados quanto à presença de anticorpos reativos pré-

formados contra moléculas de HLA alogênicas prevalentes na população. A presença desses anticorpos, que podem ser produzidos como um resultado de gestações, transfusões ou transplantes anteriores, aumenta o risco de rejeição vascular hiperaguda ou aguda. Pequenas quantidades de soro do paciente são misturadas a esferas (*beads*) marcadas com múltiplas fluorescências e revestidas com moléculas de MHC definidas, representativas dos alelos de MHC que podem estar presentes na população de doadores de órgãos. Cada alelo de MHC está ligado a uma esfera com um marcador fluorescente colorido diferente. A ligação dos anticorpos do paciente às esferas é determinada por citometria de fluxo. Os resultados são apresentados na forma de PRA, o qual é a porcentagem do painel de alelos do MHC com qual o soro do paciente reage. O PRA é determinado em várias ocasiões enquanto um paciente aguarda pelo aloenxerto de um órgão. Isso ocorre porque o PRA pode variar, uma vez que cada painel é escolhido aleatoriamente e o título dos anticorpos do soro do paciente pode mudar ao longo do tempo.

Se um potencial doador é identificado, o teste de prova cruzada irá determinar se o paciente tem anticorpos que reagem especificamente com as células daquele doador. O teste é realizado por meio da mistura de soro do receptor com os linfócitos do sangue do doador (uma fonte conveniente de células, algumas das quais expressam proteínas do MHC tanto de classe I quanto de classe II). Testes de citotoxicidade mediada pelo complemento ou ensaios de citometria de fluxo podem então ser usados para determinar se os anticorpos no soro do receptor se ligaram às células do doador. Por exemplo, o complemento é adicionado à mistura de células e de soro. Se os anticorpos pré-formados, geralmente contra moléculas de MHC do doador, estiverem presentes no soro do receptor, as células do doador serão lisadas. Essa seria uma prova cruzada positiva, indicando que o doador é inadequado para aquele receptor.

Imunossupressão para Prevenir ou Tratar a Rejeição de Aloenxertos

Os fármacos imunossupressores que inibem ou matam os linfócitos T são os principais agentes utilizados para tratar ou prevenir a rejeição dos enxertos. Vários métodos de imunossupressão são geralmente utilizados (Fig. 17.12).

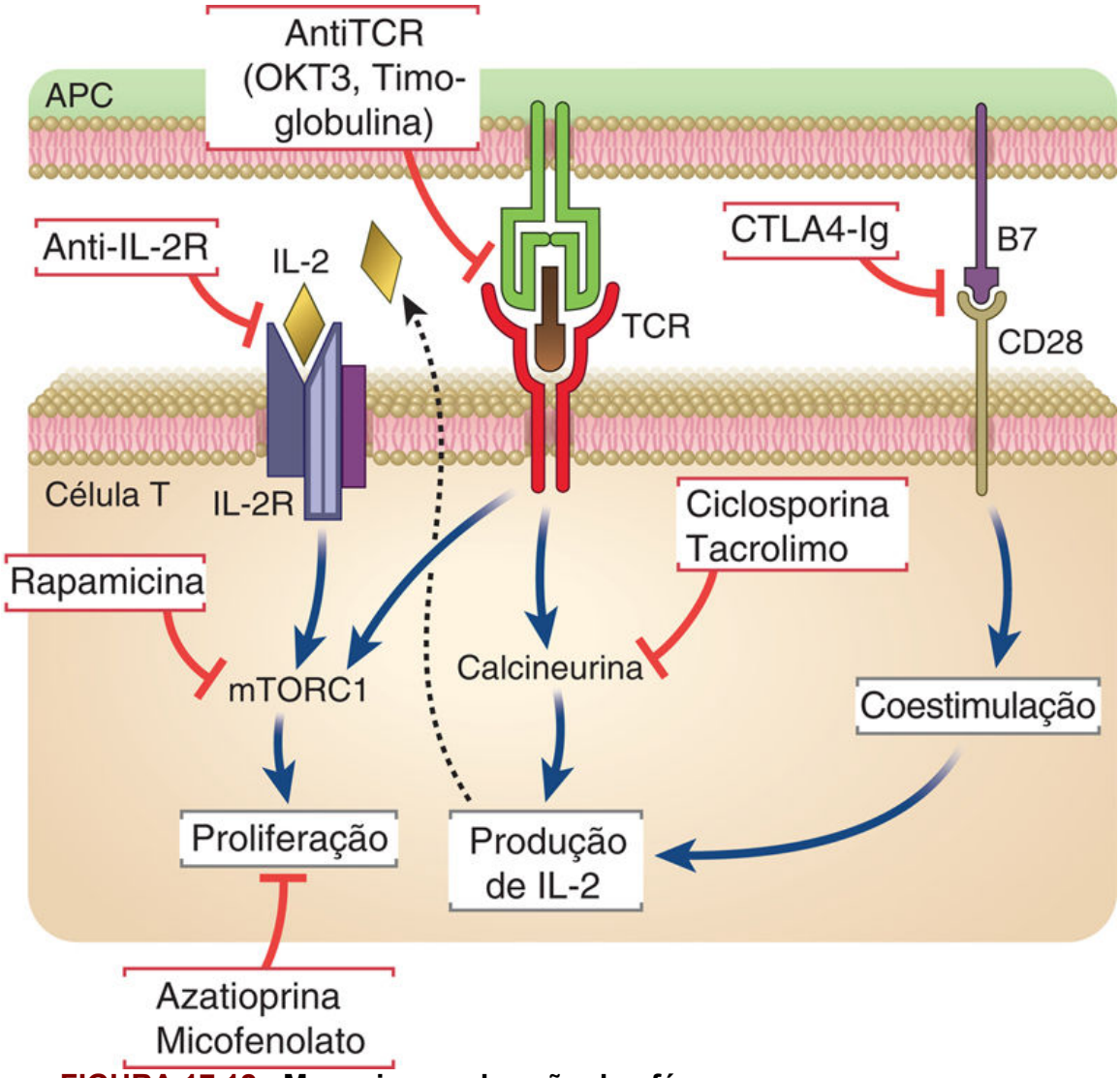


FIGURA 17.12 Mecanismos de ação dos fármacos imunossupressores.
Cada categoria principal de fármacos usados para prevenir ou tratar a rejeição de aloenxertos é mostrada juntamente com os alvos moleculares dos fármacos.

Inibidores das Vias de Sinalização das Células T

Os inibidores da calcineurina, ciclosporina e tracrolimo (FK506) inibem a transcrição de determinados genes em células T, mais notavelmente genes que codificam citocinas como a IL-2. A ciclosporina é um peptídeo fúngico que se liga com alta afinidade a uma proteína celular ubíqua chamada ciclofilina. O complexo formado por ciclosporina e ciclofilina se liga e inibe a atividade enzimática da calcineurina, uma serina/treonina fosfatase

ativada por cálcio/calmodulina (Capítulo 7). Como a calcineurina é necessária para ativar o fator de transcrição NFAT (do inglês, *nuclear factor of activated T cells*), a ciclosporina inibe a ativação do NFAT e a transcrição da IL-2 e de outros genes de citocinas. O resultado líquido é que a ciclosporina bloqueia a proliferação e diferenciação de células T dependentes de IL-2. O tacrolimo é um macrolídeo produzido por uma bactéria que funciona como a ciclosporina. O tacrolimo se liga à proteína ligante de FK506 (FKBP, do inglês *FK506 binding protein*) e o complexo compartilha com o complexo ciclosporina-ciclofilina a capacidade de se ligar à calcineurina e inibir a sua atividade.

A introdução de ciclosporina na prática clínica inaugurou a era moderna dos transplantes. Antes do uso da ciclosporina, a maioria dos corações e fígados transplantados era rejeitada. Agora, como um resultado do uso da ciclosporina, tacrolimo e outros fármacos introduzidos mais recentemente, a maioria desses aloenxertos sobrevivem por mais de 5 anos (Fig. 17.13). No entanto, ess'es fármacos têm limitações. Por exemplo, em doses necessárias para a imunossupressão ótima, a ciclosporina causa danos renais e alguns episódios de rejeição são refratários ao tratamento com ciclosporina. O tacrolimo foi inicialmente usado em receptores de transplante de fígado, mas agora é amplamente utilizado para a imunossupressão de receptores de aloenxertos renais, incluindo aqueles que não são adequadamente controlados pela ciclosporina.

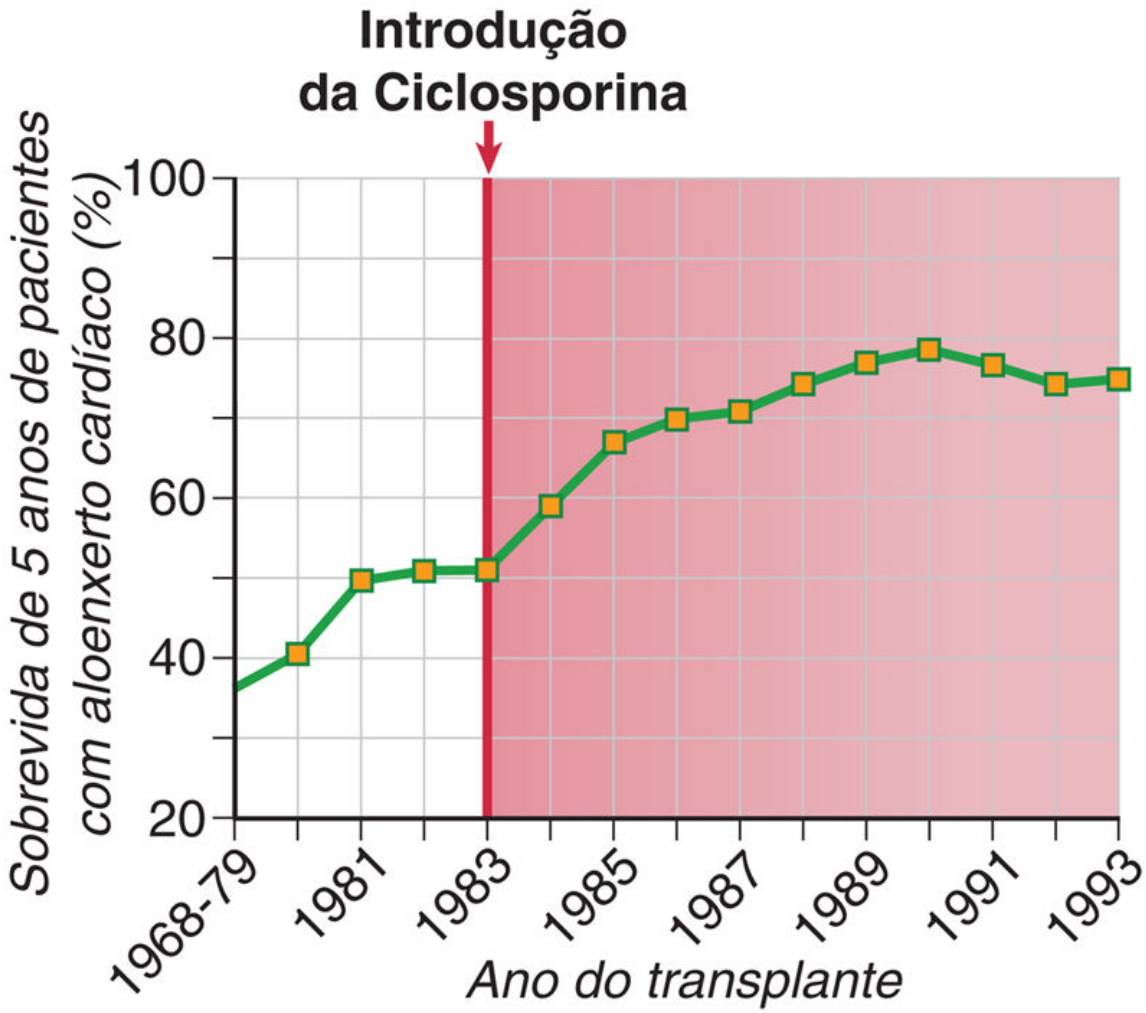


FIGURA 17.13 Influência da ciclosporina na sobrevida do enxerto.
As taxas de sobrevivência de 5 anos para os pacientes que receberam enxertos cardíacos aumentaram significativamente começando quando a ciclosporina foi introduzida, em 1983 (Dados do Transplant Patient DataSource, United Network for Organ Sharing, Richmond, Virgínia. Disponível em http://207.239.150.13/tpd/. Acessado em 17 de fevereiro de 2000.)

O fármaco imunossupressor rapamicina (sirolimo) inibe a proliferação de células T mediada por fatores de crescimento. Assim como o tracrolimo, a rapamicina se liga a FKBP, mas o complexo rapamicina-FKBP não inibe a calcineurina. Em vez disso, esse complexo liga-se e inibe uma enzima celular chamada alvo da rapamicina em mamíferos (mTOR, do inglês, *mammalian target of rapamycin*), uma serina/treonina quinase proteica necessária para a tradução de proteínas que promovem a sobrevivência e a proliferação celular. A mTOR é regulada negativamente por um complexo

proteico chamado complexo esclerose tuberosa 1 (TSC1, do inglês, *tuberous sclerosis complex 1*)-TSC2. A sinalização por fosfatidilinositol 3-quinase (PI3K)-Akt resulta na fosforilação de TSC2 e liberação da regulação de mTOR. Várias vias de sinalização dos receptores de fatores de crescimento, incluindo a via do receptor de IL-2 nas células T, bem como os sinais do TCR e CD28, ativam mTOR através de PI3K-Akt, levando à tradução de proteínas necessárias para a progressão do ciclo celular. Assim, através da inibição da função de mTOR, a rapamicina bloqueia a proliferação de células T. A combinação de ciclosporina (que bloqueia a síntese de IL-2) e rapamicina (que bloqueia a proliferação dirigida por IL-2) inibe de maneira potente as respostas de células T. Curiosamente, a rapamicina inibe a geração de células T efetoras, mas não prejudica tanto a sobrevivência e as funções das células T reguladoras (Tregs), o que pode promover a supressão imunológica da rejeição do enxerto. A mTOR está envolvida com as funções de células dendríticas e, portanto, os efeitos da rapamicina sobre essas células pode suprimir as respostas de células T. A mTOR está também envolvida na proliferação de células B e respostas dos anticorpos e, por isso, a rapamicina pode também ser eficaz na prevenção ou tratamento da rejeição mediada por anticorpos.

Outras moléculas envolvidas na sinalização de citocinas e do TCR também são alvos de fármacos imunossupressores que estão em ensaios para o tratamento ou prevenção da rejeição de aloenxertos. Uma dessas moléculas-alvo é a tirosina quinase JAK3, envolvida na sinalização de vários receptores de citocinas, incluindo a IL-2, e a proteína quinase C, uma quinase essencial para a sinalização do TCR.

Antimetabólitos

As toxinas metabólicas que matam as células T em proliferação são utilizadas em combinação com outros fármacos para tratar a rejeição do enxerto. Esses agentes inibem a proliferação de precursores de linfócitos durante a sua maturação e também destroem as células T maduras em proliferação que tenham sido estimuladas por aloantígenos. O primeiro fármaco dessa categoria desenvolvido para a prevenção e tratamento da rejeição foi a azatioprina. Ele ainda é utilizado, mas é tóxico para os precursores de leucócitos na medula óssea e para os enterócitos no intestino. O fármaco mais amplamente usado nessa classe é o **micofenolato de mofetila (MMF)**. O MMF é metabolizado a ácido micofenólico, que bloqueia a atividade da inosina monofosfato desidrogenase, uma enzima necessária para a síntese *de novo* dos

nucleotídeos de guanina. Como os linfócitos em proliferação são particularmente dependentes da síntese *de novo* das purinas, o MMF atinge os linfócitos de maneira relativamente específica. O MMF é agora usado rotineiramente, normalmente em combinação com a ciclosporina ou com o tacrolimo, para prevenir a rejeição aguda do enxerto.

Bloqueio de Função ou Depleção de Anticorpos Antilinfócitos

Os anticorpos que reagem com estruturas da superfície de células T e destroem ou inibem as células T são usados para o tratamento de episódios de rejeição aguda. O primeiro anticorpo anticélulas T utilizado em pacientes transplantados foi um anticorpo monoclonal de camundongo chamado de OKT3, específico para o CD3 humano. (O OKT3 foi o primeiro anticorpo monoclonal usado como medicamento em seres humanos, mas não está mais sendo produzido.) Os anticorpos policlonais de coelho ou de cavalo específicos para uma mistura proteínas da superfície de células T humanas, as chamadas **globulinas antitimócitos**, estiveram também em uso clínico durante muitos anos para o tratamento da rejeição aguda de aloenxertos. Esses anticorpos anticélulas T matam as células T circulantes seja pela ativação do sistema complemento que elimina as células T ou pela sua opsonização para a fagocitose.

Os anticorpos monoclonais específicos para CD25, a subunidade α do receptor da IL-2, estão agora em uso clínico. Esses reagentes previnem a ativação das células T pelo bloqueio da ligação da IL-2 a células T ativadas e de sua sinalização.

Outro anticorpo monoclonal utilizado no transplante clínico é um anticorpo monoclonal IgM de rato específico para CD52, uma proteína da superfície celular expressa na maioria das células B e T maduras, cuja função não é compreendida. O antiCD52 (chamado alemtuzumabe) foi originalmente desenvolvido para o tratamento de neoplasias malignas de células B e verificou-se que depleta a maior parte das células T e B periféricas por muitas semanas após a injeção em pacientes. O antiCD52 é administrado antes e logo após o transplante, com a esperança de que pode induzir um estado de tolerância prolongada do enxerto conforme novos linfócitos se desenvolvem na presença do enxerto.

A principal limitação para a utilização de anticorpos monoclonais ou policlonais de outras espécies é que os seres humanos, quando recebem esses agentes, produzem anticorpos anti-Ig que eliminam a Ig exógena injetada. Por essa razão, anticorpos quiméricos humano-camundongo

(humanizados) (p. ex.: contra CD3 e CD25), que são menos imunogênicos, foram desenvolvidos (Capítulo 5).

Bloqueio da Coestimulação

Os fármacos que bloqueiam as vias de coestimulação de células T reduzem a rejeição aguda do aloenxerto. A base racional para o uso desses tipos de fármacos é impedir a entrega dos sinais coestimuladores necessários para a ativação das células T (Capítulo 9). Lembre-se de que a CTLA4-Ig é uma proteína recombinante formada pela porção extracelular de CTLA-4 fundida a um domínio Fc de IgG. Uma forma de alta afinidade da CTLA4-Ig, chamada belatacepte, se liga às moléculas B7 nas APCs impedindo-as de interagir com o CD28 das células T (Fig. 9.7), e está aprovada para utilização em pacientes transplantados. Estudos clínicos mostraram que a belatacepte pode ser tão eficiente quanto a ciclosporina na prevenção da rejeição aguda, mas seu alto custo e outros fatores têm limitado o uso generalizado deste agente biológico. Um anticorpo que se liga ao ligante de CD40 (CD40L) da célula T e impede suas interações com CD40 nas APCs (Capítulo 9) também se mostrou benéfico para a prevenção da rejeição do enxerto em animais de laboratório. Em alguns protocolos experimentais, o bloqueio simultâneo de B7 e CD40 parece ser mais eficiente do que o bloqueio isolado para promover a sobrevivência do enxerto. Todavia, nos ensaios clínicos com o anticorpo antiCD40L surgiram complicações trombóticas, aparentemente relacionadas à expressão de CD40L em plaquetas.

Fármacos que Afetam Aloanticorpos e Células B Alorreativas

À medida que aprendemos mais sobre a importância dos aloanticorpos mediando a rejeição aguda e talvez a rejeição crônica, terapias que têm como alvo os anticorpos e as células B, desenvolvidas para outras doenças, estão agora sendo utilizadas em pacientes transplantados. Por exemplo, a plasmaferese é usada às vezes para o tratamento de rejeição aguda mediada por anticorpos. Nesse procedimento, o sangue do paciente é bombeado por meio de uma máquina que remove o plasma, mas retorna às células sanguíneas para a circulação. Dessa forma, os anticorpos circulantes, incluindo os anticorpos alorreativos patogênicos, podem ser removidos. A terapia com imunoglobulina intravenosa (IVIG, do inglês, *intravenous immunoglobulin*), usada para tratar várias doenças inflamatórias

mediadas por anticorpos, também está sendo aplicada na condição de rejeição aguda mediada por anticorpos. Na terapia com IVIG, a IgG coletada de vários doadores normais é injetada por via intravenosa em um paciente. Os mecanismos de ação não estão totalmente compreendidos, mas provavelmente envolvem a ligação da IgG injetada aos receptores Fc do paciente em vários tipos celulares, reduzindo assim a produção de aloanticorpos e bloqueando as funções efetoras dos anticorpos do próprio paciente. A IVIG também aumenta a degradação dos anticorpos do paciente pela inibição competitiva da sua ligação ao receptor Fc neonatal (Capítulo 5). A depleção de células B por meio da administração de rituximabe, um anticorpo antiCD20 aprovado para o tratamento de linfomas de células B e de doenças autoimunes, é usado em alguns casos de rejeição aguda mediada por anticorpos. O inibidor dos proteassomos, bortezomibe, que destrói plasmócitos e está aprovado para o tratamento do mieloma múltiplo, também é usado em alguns casos para tratar a rejeição do aloenxerto mediada por anticorpos.

Fármacos Anti-inflamatórios

Os agentes anti-inflamatórios, especificamente os corticosteroides, são frequentemente usados para reduzir a reação inflamatória aos aloenxertos de órgãos. O mecanismo de ação proposto para esses hormônios naturais e seus análogos sintéticos é o bloqueio da síntese e secreção de citocinas, incluindo o TNF e a IL-1, além de outros mediadores inflamatórios, tais como as prostaglandinas, as espécies reativas de oxigênio e o óxido nítrico, produzidos pelos macrófagos e outras células inflamatórias. O resultado líquido desta terapia é a redução do recrutamento de leucócitos, inflamação e danos ao enxerto.

Os protocolos imunossupressores atuais têm melhorado dramaticamente a sobrevida do enxerto. Antes do uso dos inibidores de calcineurina, a taxa de sobrevida de 1 ano dos enxertos renais de cadáveres não relacionados estava entre 50 e 60%, com uma taxa de 90% para enxertos de doadores familiares vivos (que são mais compatíveis com os receptores). Desde a introdução da ciclosporina, tacrolimo, rapamicina, e MMF, a taxa de sobrevida de 1 ano dos enxertos renais de cadáveres não relacionados aumentou para cerca de 90%. Os transplantes cardíacos, para os quais a compatibilidade do HLA não é exequível, também se beneficiaram de forma significativa com o uso de várias classes de fármacos imunossupressores comentados anteriormente e agora apresentam em torno de 90% de taxa de sobrevida em 1 ano e cerca de 75%

de taxa de sobrevida em 5 anos (Fig. 17.13). A experiência com outros órgãos é mais limitada, mas as taxas de sobrevida dos pacientes também melhoraram com o uso da terapia imunossupressora moderna, com taxas de sobrevida de 10 anos de aproximadamente 60 e 75% para os receptores de pâncreas e fígado, respectivamente, e taxa de sobrevida de 3 anos em 70-80% para os receptores de pulmão.

Uma imunossupressão forte é geralmente iniciada em receptores de aloenxertos no momento do transplante com uma combinação de fármacos chamada terapia de indução. Depois de alguns dias, os fármacos são alterados para a manutenção da imunossupressão a longo prazo. Por exemplo, no caso de transplante renal em adultos, um paciente pode ser inicialmente induzido com um anticorpo de depleção anti-IL-2R ou anticélulas T e uma alta dose de corticosteroides, e então mantido com um inibidor de calcineurina, um antimetabólito e talvez esteroides em doses baixas. A rejeição aguda, quando ocorre, é controlada com a rápida intensificação da terapia imunossupressora. Em transplantes modernos, a rejeição crônica se tornou uma causa mais comum de falência do aloenxerto, especialmente em transplantes cardíacos. A rejeição crônica é mais insidiosa e muito menos responsiva à imunossupressão do que a rejeição aguda.

A terapia imunossupressora leva ao aumento da suscetibilidade a vários tipos de infecções e de tumores associados a vírus. O principal objetivo da imunossupressão para tratar a rejeição do enxerto é reduzir a geração e função das células T auxiliares e dos CTLs, que medeiam a rejeição celular aguda. Dessa forma, não é de se estranhar que a defesa contra vírus e outros patógenos intracelulares, a função fisiológica das células T, também esteja comprometida em receptores de transplantes imunossuprimidos. A reativação de herpesvírus latentes é um problema frequente em pacientes imunossuprimidos, incluindo o citomegalovírus, o vírus do herpes simples, vírus varicela-zoster e o vírus Epstein-Barr. Por essa razão, os receptores de transplantes agora recebem a terapia antiviral profilática para infecções por herpesvírus. Os pacientes transplantados imunossuprimidos também apresentam maior risco de contrair uma variedade das chamadas infecções oportunistas, que normalmente não ocorrem nas pessoas imunocompetentes, incluindo infecções fúngicas (pneumonia por *Pneumocystis jiroveci*, histoplasmose, coccidioidomicose), infecções por protozoários (toxoplasmose) e infecções parasitárias gastrintestinais (*Cryptosporidium* e *Microsporidium*). Os receptores imunossuprimidos de aloenxertos têm um risco mais alto de desenvolverem câncer em comparação com a população em geral,

incluindo várias formas de câncer de pele. Alguns tumores mais frequentemente encontrados em pacientes transplantados são reconhecidamente originados de infecções virais e, portanto, podem surgir em decorrência de imunidade antiviral deficiente. Esses tumores incluem o carcinoma cervical uterino, que está relacionado com a infecção pelo papilomavírus humano, e linfomas causados pela infecção por vírus Epstein-Barr. Os linfomas encontrados em receptores de aloenxertos formam um grupo chamado doenças linfoproliferativas pós-transplante (PTLDs, do inglês, *post-transplantation lymphoproliferative disorders*), e a maior parte delas é derivada de linfócitos B infectados pelo vírus Epstein Barr.

Apesar do risco de infecções e neoplasias associadas ao uso de fármacos imunossupressores, a maior limitação das doses toleradas da maioria desses medicamentos, incluindo os inibidores da calcineurina, os inibidores de mTOR, os antimetabólitos e os esteroides, é a toxicidade direta às células não relacionadas a imunossupressão. Em alguns casos, a toxicidade atinge as mesmas células afetadas pela rejeição, tais como a toxicidade da ciclosporina para as células epiteliais tubulares renais, o que pode complicar a interpretação do declínio da função renal em receptores de aloenxertos renais.

Métodos para Induzir Tolerância Doador-Específica

A rejeição de aloenxertos pode ser prevenida, tornando o hospedeiro tolerante aos aloantígenos do enxerto. A tolerância nesse contexto significa que o sistema imunológico do hospedeiro não danifica o enxerto, a despeito da suspensão do agentes imunossupressores. Presume-se que a tolerância a um aloenxerto envolverá os mesmos mecanismos que participam da tolerância a autoantígenos (Capítulo 15), ou seja, anergia, deleção e supressão ativa de células T alorreativas por Tregs. A tolerância é desejável no transplante por ser específica ao aloantígeno e, consequentemente, evitar os principais problemas associados à imunossupressão não específica, a saber: a imunodeficiência que leva ao aumento da susceptibilidade às infecções e ao desenvolvimento de tumores, e a toxicidade do fármaco. Além disso, alcançar a tolerância do enxerto pode reduzir a rejeição crônica, que até o momento não tem sido afetada pelos agentes imunossupressores comumente usados que previnem e revertem os episódios de rejeição aguda.

Várias abordagens experimentais e observações clínicas demonstraram que deve ser possível atingir a tolerância aos aloenxertos. Em

experimentos com camundongos, Medawar e colegas descobriram que, se os camundongos neonatos de uma linhagem (receptora) recebem células do baço de outra linhagem (doadora), os receptores subsequentemente aceitarão enxertos de pele do doador. Essa tolerância é aloantígeno-específica porque os receptores rejeitarão enxertos dos camundongos de linhagens que expressam alelos de MHC diferentes daqueles das células do baço do doador. Pacientes transplantados renais que receberam transfusões sanguíneas contendo leucócitos alogênicos têm uma menor incidência de episódios de rejeição aguda do que aqueles que nunca foram transfundidos. A explicação postulada para esse efeito é que a introdução de leucócitos alogênicos por transfusão produz tolerância a aloantígenos. Um mecanismo subjacente à indução de tolerância pode ser a presença entre as células transfundidas do doador de células dendríticas imaturas indutoras de não responsividade aos aloantígenos dos doadores. De fato, o pré-tratamento de potenciais receptores com transfusões sanguíneas é agora utilizado como terapia profilática para reduzir a rejeição.

Várias estratégias estão sendo testadas para induzir a tolerância doador-específica em receptores de aloenxertos.

- ***Bloqueio do coestimulador***. Postulou-se que o reconhecimento de aloantígenos, na ausência de coestimulação levaria à tolerância das células T, e há algumas evidências experimentais em animais que dão suporte a isso. Entretanto, a experiência clínica com agentes que bloqueiam a coestimulação é que eles suprimem as respostas imunes ao aloenxerto, mas não induzem tolerância de longa duração, e os pacientes têm de ser mantidos na terapia.
- ***Quimerismo hematopoiético***. Mencionamos anteriormente que a transfusão de células sanguíneas do doador para o receptor do enxerto inibe a rejeição. Se as células transfundidas do doador ou a progênie das células sobrevivem durante longos períodos, o receptor torna-se uma quimera. A tolerância de longa duração do aloenxerto por quimerismo hematopoiético foi alcançada em um pequeno número de receptores de aloenxertos renais que receberam um transplante de células-tronco hematopoiéticas do doador ao mesmo tempo em que o aloenxerto do órgão foi realizado, embora os riscos associados ao transplante células-tronco hematopoiéticas e a disponibilidade de doadores adequados podem limitar a aplicabilidade dessa abordagem.
- ***Transferência ou indução de Tregs***. As tentativas de gerar Tregs doador-específicas em cultura e transferi-las para receptores de

enxertos estão em curso. Houve algum sucesso relatado em receptores de transplantes de células-tronco hematopoéticas, nos quais as infusões de Tregs reduzem da GVHD.

Os transplantes hepáticos frequentemente sobrevivem e funcionam mesmo na ausência ou com pouca terapia imunossupressora. Os médicos usam o termo “tolerância operatória” para se referir a esse fenômeno. Em muitos casos, não está claro se as respostas de células T alorreativas estão reduzidas ou extinguidas. Também não se sabe porque o fígado é único entre os órgãos transplantados a apresentar essa capacidade de resistir à rejeição.

Transplante Xenogênico

O uso de transplantes de órgãos sólidos como forma de terapia clínica é bastante limitado pelo número insuficiente de doadores de órgãos disponíveis. Por esse motivo, a possibilidade de transplante de órgãos de outros mamíferos, tais como porcos, em receptores humanos atraiu grande interesse.

Uma barreira imunológica essencial ao transplante xenogênico é a presença de anticorpos naturais nos receptores humanos que causam a rejeição hiperaguda. Mais de 95% dos primatas têm anticorpos IgM naturais que são reativos com os determinantes carboidratos expressos por células de espécies evolutivamente distantes, como os porcos, os quais têm órgãos anatomicamente compatíveis. A maioria dos anticorpos naturais humanos antiporco é dirigida a um determinante carboidrato particular formado pela ação de uma enzima α-galactosiltransferase suína. Essa enzima posiciona uma porção de galactose α-ligada no mesmo substrato que em células de humanos e outros primatas é fucosilada para formar o antígeno do grupo sanguíneo H. Os pesquisadores produziram porcos geneticamente deficientes da α-galactosiltransferase na tentativa de resolver esse problema, mas essa estratégia apenas não foi bem-sucedida. Os anticorpos naturais são raramente produzidos contra determinantes carboidratos de espécies estreitamente relacionadas, tais como os seres humanos e os chimpanzés. Assim, órgãos de chimpanzés ou outros primatas superiores poderiam, teoricamente, ser aceitos em seres humanos. No entanto, preocupações éticas e logísticas têm limitado tais procedimentos.

Os anticorpos naturais contra xenoenxertos induzem rejeição hiperaguda pelos mesmos mecanismos observados na rejeição hiperaguda de aloenxertos. Esses mecanismos incluem a geração de pró-coagulantes nas células endoteliais e substâncias que causam agregação plaquetária, associados à perda de mecanismos anticoagulantes endoteliais. Entretanto, as consequências da ativação do complemento humano em células suínas são normalmente mais graves do que as consequências da ativação do complemento por anticorpos naturais em células humanas alogênicas. Isso deve ocorrer porque algumas proteínas reguladoras do complemento produzidas pelas células dos porcos não são capazes de interagir com as proteínas do complemento humano e, portanto, não podem limitar a extensão da lesão induzida pelo sistema complemento humano (Capítulo 13). Por essas razões, os pesquisadores desenvolveram porcos

geneticamente modificados que são transgênicos para as proteínas reguladoras do complemento humanas.

Mesmo quando a rejeição hiperaguda é prevenida, os xenoenxertos são frequentemente lesados por uma forma de rejeição vascular aguda que ocorre dentro de 2-3 dias após o transplante. Essa forma de rejeição foi chamada rejeição tardia ao xenotransplante, rejeição aguda acelerada ou rejeição vascular aguda, sendo caracterizada por trombose intravascular e necrose das paredes dos vasos. Os mecanismos da rejeição tardia ao xenoenxerto não são completamente entendidos; achados recentes indicam que deve haver incompatibilidade entre as plaquetas dos primatas e as células endoteliais suínas que promovem trombose independentemente do dano mediado por anticorpos.

Os xenoenxertos também podem ser rejeitados pela resposta imune mediada por células T. Acredita-se que os mecanismos da rejeição mediada por células ao xenoenxertos sejam semelhantes àqueles descritos para a rejeição de aloenxertos.

Transfusão Sanguínea e os Grupos de Antígenos Sanguíneos ABO e RH

A transfusão sanguínea é uma forma de transplante na qual o sangue total ou células sanguíneas de um ou mais indivíduos são transferidos intravenosamente para a circulação de outro indivíduo. As transfusões sanguíneas são realizadas mais frequentemente para repor o sangue perdido por hemorragia ou para corrigir defeitos causados pela produção inadequada de células sanguíneas, que pode ocorrer em uma variedade de doenças. A principal barreira para as transfusões sanguíneas bem-sucedidas é a resposta imune contra moléculas da superfície celular que diferem entre os indivíduos. O sistema de aloantígenos mais importante na transfusão sanguínea é o sistema ABO, que será discutido em detalhes mais adiante. Os indivíduos que não expressam um antígeno de grupo sanguíneo em particular produzem anticorpos IgM naturais contra esse antígeno. Se esses indivíduos recebem hemácias expressando o aquele antígeno, os anticorpos preexistentes ligam-se às células transfundidas, ativam o complemento e provocam **reações de transfusão**, que podem ser fatais. A transfusão que desrespeite a barreira ABO pode desencadear uma reação hemolítica imediata, resultando tanto na lise intravascular das hemácias, provavelmente mediada pelo sistema do complemento, como na extensa fagocitose de eritrócitos revestidos por anticorpos e complemento pelos macrófagos do fígado e do baço. A hemoglobina é liberada a partir das hemácias lisadas em quantidades que podem ser tóxicas para as células renais, causando a necrose aguda de células tubulares renais e falência renal. Febre alta, choque e coagulação intravascular disseminada podem também se desenvolver, sugestivos da liberação de quantidades massivas de citocinas (p. ex.: TNF ou IL-1). A coagulação intravascular disseminada consome fatores de coagulação mais rápido do que eles podem ser sintetizados e o paciente pode, paradoxalmente, morrer de hemorragia na presença de coagulação generalizada. Reações hemolíticas mais tardias podem resultar da incompatibilidade dos antígenos de grupos sanguíneos secundários. Isso resulta na perda progressiva das hemácias transfundidas, provocando anemia e icterícia, esta última uma consequência da sobrecarga do fígado com pigmentos derivados da hemoglobina.

Antígenos dos Grupos Sanguíneos ABO

Os antígenos ABO são carboidratos ligados a proteínas e lipídeos da superfície celular, sintetizados por enzimas glicosiltransferases polimórficas, cuja atividade varia dependendo do alelo herdado (Fig. 17.14). Os antígenos ABO foram o primeiro sistema de aloantígenos a ser definido em mamíferos. Todos os indivíduos normais produzem um núcleo glicana comum ligado principalmente às proteínas da membrana plasmática. A maioria dos indivíduos possui uma fucosiltransferase que adiciona uma porção de fucose a um resíduo não terminal de açúcar do núcleo glicana, sendo que as glicanas fucosiladas são chamadas antígeno H. Um único gene no cromossomo 9 codifica a enzima glicosiltransferase que pode modificar adicionalmente o antígeno H. Existem três variantes alélicas desse gene. O produto gênico do alelo O é desprovido de atividade enzimática. A enzima codificada pelo alelo A transfere uma porção *N*-acetilgalactosamina terminal para o antígeno H. E o produto gênico do alelo B transfere uma porção galactose terminal. Os indivíduos que são homozigotos para o alelo O não podem adicionar açúcares terminais ao antígeno H e expressam apenas o antígeno H. Em contraste, os indivíduos que possuem um alelo A (homozigoto AA, heterozigotos AO, ou heterozigotos AB) formam o antígeno A pela adição da *N*-acetilgalactosamina terminal em alguns dos seus antígenos H. Da mesma forma, os indivíduos que expressam um alelo B (homozigotos BB, heterozigotos BO, ou heterozigotos AB) formam o antígeno B pela adição da galactose terminal a alguns de seus antígenos H. Os heterozigotos AB formam tanto antígenos A quanto antígenos B a partir de alguns de seus antígenos H. A terminologia foi simplificada de maneira que os indivíduos OO são ditos do tipo sanguíneo O; os indivíduos AA e AO são do tipo sanguíneo A; os indivíduos BB e BO são do tipo sanguíneo B; e os indivíduos AB são do sanguíneo AB. As mutações no gene codificador da fucosiltransferase que produz o antígeno H são raras; indivíduos homozigotos para essa mutação são ditos do grupo sanguíneo Mumbai e não podem produzir antígenos H, A ou B nem podem receber sangue tipo O, A, B ou AB.

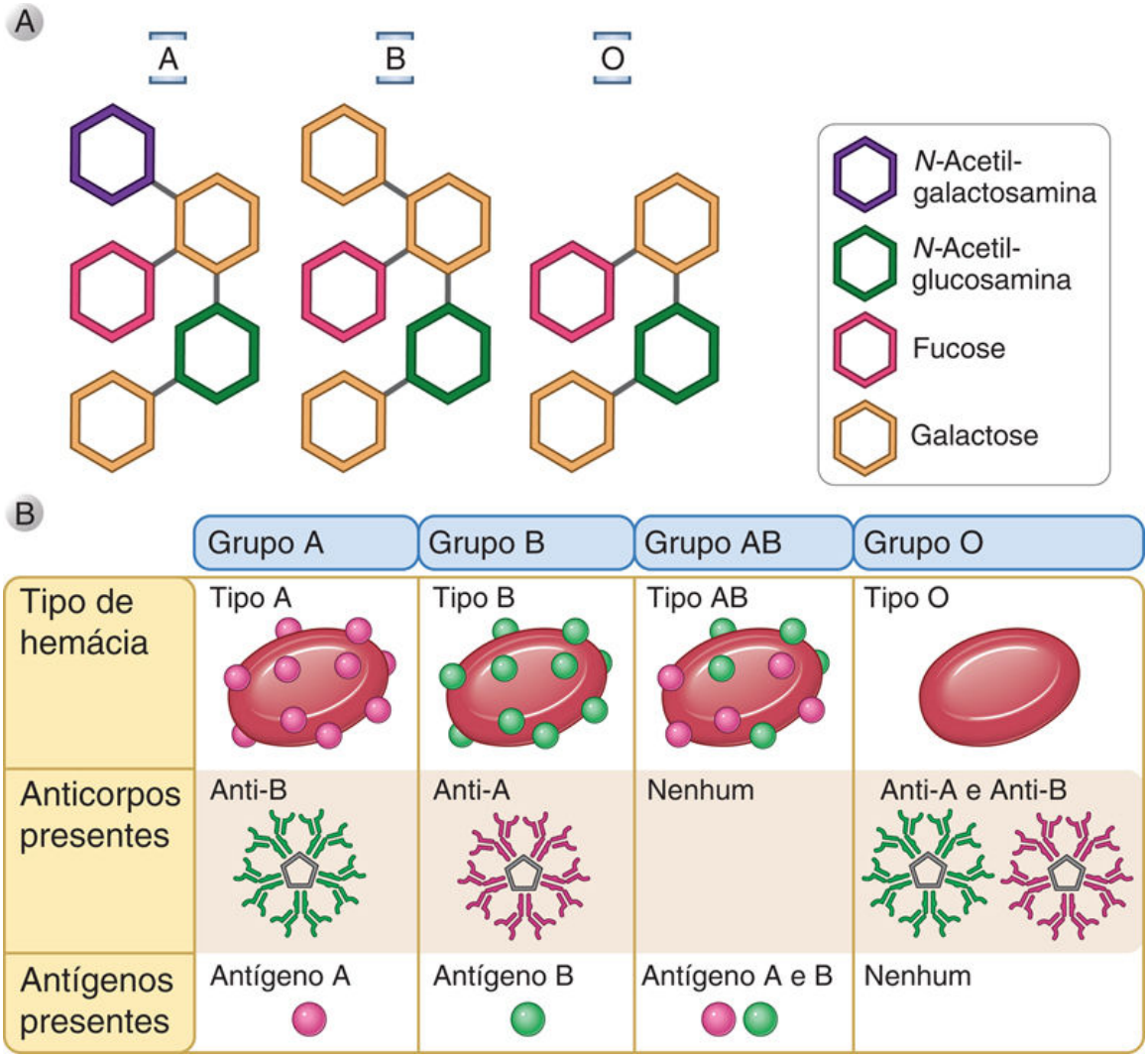


FIGURA 17.14 Antígenos do grupo sanguíneo ABO.
A, Antígenos do grupo sanguíneo são estruturas de carboidratos adicionados a proteínas ou lipídeos da superfície celular pela ação de glicosiltransferases (ver texto). **B,** Antígenos de diferentes grupos sanguíneos são produzidos pela adição de diversos açúcares por diferentes glicosiltransferases herdadas. Os indivíduos que expressam um antígeno de grupo sanguíneo particular são tolerantes a esse antígeno, mas produzem anticorpos naturais que reagem com antígenos de outros grupos sanguíneos.

Os indivíduos que expressam um antígeno particular do grupo sanguíneo A ou B são tolerantes a esse antígeno, enquanto os indivíduos que não o expressam produzem anticorpos naturais que reconhecem o antígeno. Praticamente todos os indivíduos expressam o antígeno H e, portanto, são tolerantes a esse antígeno e não produzem anticorpos anti-H. Os indivíduos que expressam antígenos A ou B são tolerantes a essas

moléculas e não produzem anticorpos anti-A e anti-B respectivamente. Entretanto, os indivíduos dos grupos sanguíneos O e A produzem anticorpos IgM anti-B, e os indivíduos dos grupos sanguíneos O e B produzem anticorpos IgM anti-A. Os raros indivíduos incapazes de produzir antígenos do núcleo H produzem anticorpos contra os antígenos H, A, e B. À primeira vista, parece paradoxal que os indivíduos que não expressam um antígeno de grupo sanguíneo produzam anticorpos contra esse antígeno. A explicação provável é que os anticorpos são produzidos contra glicolípideos de bactérias intestinais que acabam reagindo de forma cruzada com os antígenos ABO, a menos que o indivíduo seja tolerante a um ou mais desses antígenos. De forma previsível, a presença de qualquer antígeno de grupo sanguíneo induz a tolerância a esse antígeno.

Na transfusão clínica, a escolha dos doadores de sangue para um receptor em particular é baseada na expressão de antígenos dos grupos sanguíneos e nas respostas de anticorpos contra eles. Se um paciente recebe uma transfusão de hemácias de um doador que expressa o antígeno não expresso em suas próprias hemácias, uma reação transfusional pode ocorrer (descrita anteriormente). Acontece que os indivíduos AB podem tolerar transfusões de todos os potenciais doadores e são, portanto, chamados receptores universais; da mesma forma, os indivíduos O podem tolerar transfusões apenas de doadores O, mas podem fornecer sangue para todos os receptores e, assim, são chamados doadores universais. Em geral, as diferenças nos grupos sanguíneos secundários levam à lise de hemácias somente depois de repetidas transfusões desencadearem uma resposta secundária de anticorpos.

Os antígenos dos grupos sanguíneos A e B são expressos em muitos outros tipos celulares além das células sanguíneas, incluindo células endoteliais. Por essa razão, a tipagem ABO é crucial para evitar a rejeição hiperaguda de certos aloenxertos de órgãos sólidos, como discutido anteriormente neste capítulo. A incompatibilidade ABO entre a mãe e o feto geralmente não causa problemas para o feto porque a maior parte dos anticorpos anticarboidratos são IgM e não atravessam a placenta.

Antígenos de Outros Grupos Sanguíneos

Antígeno Lewis

As mesmas glicoproteínas que transportam os determinantes dos grupos sanguíneos A e B podem ser modificadas por outras glicosiltransferases para gerar antígenos de grupos sanguíneos secundários. Por exemplo, a adição de porções de fucose em outras posições não terminais pode ser

catalisada por diferentes fucosiltransferases e criar os epítopos do sistema de antígeno Lewis. Os antígenos Lewis receberam muita atenção por parte dos imunologistas porque esses grupos carboidratos servem como ligantes para E-selectina e P-selectina e, assim, desempenham um papel na migração de leucócitos (Capítulo 3).

Antígeno Rhesus (Rh)

Os antígenos Rhesus (Rh), nomeados dessa forma devido à espécie do macacos em que foram originalmente identificados, são outro conjunto de antígenos dos grupos sanguíneos clinicamente importante. Os antígenos Rh são proteínas de superfície celular não glicosiladas e hidrofóbicas, encontradas nas membranas das hemácias e estão estruturalmente relacionadas a outras glicoproteínas com funções transportadoras nessas membranas. As proteínas Rh são codificadas por dois genes fortemente ligados e altamente homólogos, mas apenas um deles, chamado RhD, é comumente considerado na tipagem sanguínea clínica. Isso ocorre porque até 15% da população tem uma deleção ou outra alteração do alelo RhD. Essas pessoas, chamadas Rh negativas, não são tolerantes ao antígeno RhD e produzirão anticorpos para o antígeno se forem expostas a células sanguíneas Rh-positivas.

O principal significado clínico dos anticorpos anti-Rh está relacionado às reações hemolíticas nos fetos em desenvolvimento, as quais são semelhantes às reações de transfusão. Mães Rh negativas gestando um feto Rh positivo podem ser sensibilizadas por hemácias fetais que entram na circulação materna, geralmente durante o parto. Uma vez que o antígeno Rh é uma proteína, ao contrário dos antígenos carboidratos ABO, anticorpos IgG de alta afinidade, que passaram por troca de classe, específicos para Rh são gerados em mães Rh negativas. As gestações subsequentes nas quais o feto é Rh positivo estão em risco, pois os anticorpos IgG anti-Rh maternos podem atravessar a placenta e mediar a destruição das hemácias fetais. Isso causa a **eritroblastose fetal** (doença hemolítica do recém-nascido) e pode ser letal para o feto. Essa doença pode ser prevenida pela administração de anticorpos anti-RhD para a mãe dentro de 72 horas após o nascimento do primeiro bebê Rh positivo. O tratamento previne que as hemácias Rh positivas do bebê que entraram na circulação materna induzam a produção de anticorpos anti-Rh na mãe. Os mecanismos de ação exatos dos anticorpos administrados não são claros, mas devem incluir a remoção fagocítica ou a lise das hemácias do bebê mediada pelo complemento antes que possam desencadear uma resposta

de anticorpos maternos, ou ainda a inibição por *feedback* dependente do receptor Fc das células B RhD-específicas da mãe (Capítulo 12).

Transplante de Células-tronco Hematopoiéticas (CTHs)

O transplante de CTHs é um procedimento clínico para tratar doenças letais causadas por defeitos intrínsecos em uma ou mais linhagens hematopoiéticas de um paciente. As células hematopoiéticas do próprio paciente são destruídas e as CTHs de um doador sadio são então transferidas para restaurar a produção normal de células sanguíneas desse paciente. Consideramos o transplante de CTHs separadamente de outras forma de transplante porque esse tipo de enxerto tem muitas características únicas que não são encontradas no transplante de órgãos sólidos.

Indicações, Métodos e Barreiras Imunológicas no Transplante de Células-tronco Hematopoiéticas

O transplante de CTHs pluripotentes foi realizado no passado usando um inóculo de células da medula óssea coletadas por aspiração, e o procedimento é muitas vezes chamado transplante de medula óssea. Na prática clínica moderna, as CTHs são mais frequentemente obtidas a partir do sangue de doadores, após o tratamento com fatores estimuladores de colônias que mobilizam as células-tronco da medula óssea. O receptor é tratado antes do transplante com uma combinação de quimioterapia, imunoterapia ou irradiação para destruir as CTHs defeituosas e para liberar nichos para as células-tronco transferidas. Após o transplante, as células-tronco inoculadas repovoam a medula óssea do receptor e se diferenciam em todas as linhagens hematopoiéticas.

O transplante de CTHs é mais frequentemente usado na clínica para o tratamento de leucemias e condições pré-leucêmicas. De fato, o transplante de CTHs é o único tratamento curativo para algumas dessas doenças, incluindo a leucemia linfoide crônica e a leucemia mieloide crônica. Os mecanismos pelos quais o transplante de CTHs cura neoplasias hematopoéticas é em parte decorrente do efeito enxerto *versus* tumor, no qual as células T maduras e as células NK presentes na medula óssea ou no inóculo de células-tronco reconhecem aloantígenos das células tumorais residuais e as destrói. O transplante de CTHs também é usado clinicamente para o tratamento de doenças causadas por mutações hereditárias em genes que afetam apenas células derivadas das CTHs,

como linfócitos ou hemácias. Exemplos de doenças que podem ser curadas por meio da transferência de CTHs são a deficiência de adenosina desaminase (ADA), a doença de imunodeficiência combinada grave ligada ao X e às mutações da hemoglobina, tais como a beta talassemia major e a anemia falciforme.

As CTHs alogênicas são rejeitadas mesmo por um hospedeiro minimamente imunocompetente e, consequentemente, o doador e o receptor devem ser cuidadosamente pareados para todos os* loci *do MHC. Os mecanismos da rejeição de CTHs não são completamente conhecidos, mas além de mecanismos imunes adaptativos, as CTHs podem ser rejeitadas pelas células NK. O papel das células NK na rejeição da medula óssea foi estudado em animais experimentais. Camundongos híbridos F1 irradiados rejeitam as células da medula óssea doada por qualquer um dos pais consanguíneos. Esse fenômeno, chamado de resistência do híbrido, parece violar as leis clássicas do transplante de órgãos sólidos (na qual camundongos F1 não reagem contra enxertos provenientes de ambos os pais – Fig. 17.3). A resistência do híbrido é observada em camundongos deficientes de células T, e a depleção das células NK do receptor com anticorpos anticélulas NK previne a rejeição das células da medula óssea dos progenitores. A resistência do híbrido é provavelmente em virtide das células NK do hospedeiro que reagem contra os precursores da medula óssea que não possuem moléculas de MHC de classe I expressas pelo hospedeiro. Lembre-se de que normalmente, o reconhecimento do MHC de classe I próprio inibe a ativação das células NK e que, se essas moléculas próprias do MHC estão ausentes, as células NK são liberadas da inibição (Fig. 4.10).

Mesmo depois que um enxerto é bem-sucedido, dois problemas adicionais estão frequentemente associados ao transplante de CTHs: a GVHD e a imunodeficiência, discutidas a seguir.

Complicações Imunológicas dos Transplantes de Células-tronco Hematopoiéticas

Doença do Enxerto-*Versus*-Hospedeiro

A GVHD é causada pela reação de células T maduras do enxerto, presentes no inóculo de CTHs, com aloantígenos do hospedeiro. A GVHD ocorre quando o hospedeiro está imunocomprometido e, portanto, incapaz de rejeitar as células alogênicas do enxerto. Na maioria dos casos, a reação é dirigida contra os antígenos de histocompatibilidade secundários do hospedeiro, porque o transplante de medula óssea normalmente não é

realizado quando doador e receptor apresentam diferenças em moléculas do MHC. A GVHD pode também se desenvolver quando órgãos sólidos que contêm um número significativo de células T são transplantados, tais como o intestino delgado, o pulmão ou o fígado.

A GVHD é a principal limitação para o sucesso do transplante de medula óssea. Imediatamente após o transplante das CTHs, agentes imunossupressores são indicados para a profilaxia contra o desenvolvimento da GVHD, incluindo inibidores da calcineurina como a ciclosporina e o tacrolimo, antimetabólitos como o metotrexato, e o inibidor de mTOR, sirolimus. Apesar dessas estratégias profiláticas agressivas, a GVHD é a principal causa de mortalidade entre receptores de transplantes de CTHs. A GVHD pode ser classificada em formas aguda e crônica, com base nos padrões histológicos.

A **GVHD aguda** é caracterizada pela morte das células epiteliais da pele (Fig. 17.15), fígado (principalmente do epitélio biliar) e trato gastrintestinal, manifestando-se clinicamente por erupção cutânea, icterícia, diarreia e hemorragia gastrintestinal. Quando a morte das células epiteliais é extensa, a pele ou o revestimento do intestino podem se desprender. Nessa circunstância, a GVHD aguda pode ser fatal.

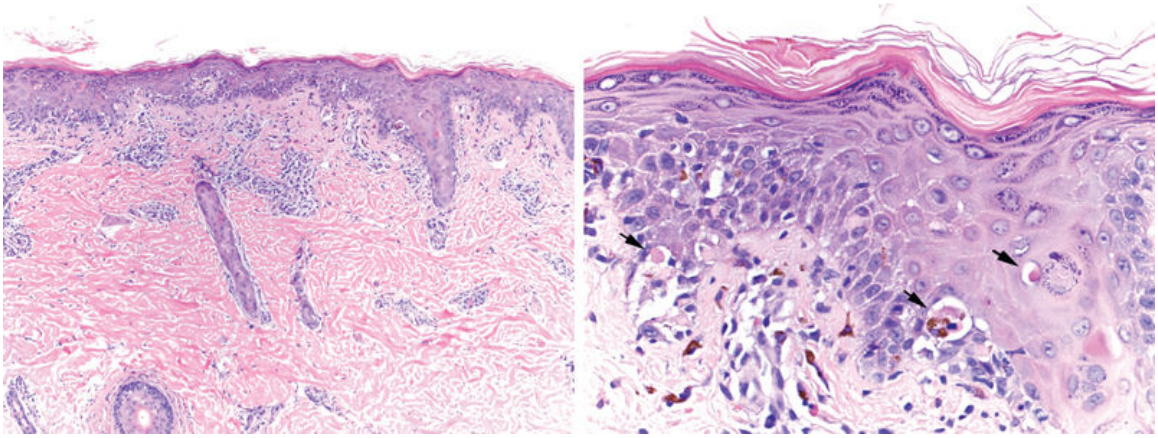


FIGURA 17.15 Histopatologia da GVHD aguda na pele. Fotomicrografias de baixa resolução (*esquerda*) e de alta resolução (*direita*) de uma biópsia de pele de um paciente com GVHD são mostradas. Um infiltrado linfocítico disperso pode ser visto na junção dermo-epidérmica e o dano na camada epitelial está indicado por espaços na junção dermo-epidérmica (vacuolização), células com coloração anormal para a queratina (disceratose), queratinócitos apoptóticos (*setas*) e desorganização da maturação de queratinócitos a partir da lâmina basal até a superfície. (Cortesia de Dr. Scott Grantor, Department of Pathology, Brigham and Women's Hospital and Harvard Medical School, Boston, Massachusetts.)

A **GVHD crônica** é caracterizada por fibrose e atrofia de um ou mais dos mesmos órgãos, sem evidência de morte celular aguda. A GVHD crônica pode também envolver os pulmões e produzir obliteração das vias aéreas inferiores, chamada de bronquiolite obliterante, semelhante ao que é visto na rejeição crônica de aloenxertos pulmonares. Quando grave, a GVHD crônica leva a uma completa disfunção do órgão afetado.

Em modelos animais, a GVHD aguda é iniciada pelas células T maduras transferidas com as CTHs e a eliminação das células T maduras provenientes do doador do enxerto pode impedir o desenvolvimento da GVHD. Em transplantes clínicos de CTHs, os esforços para eliminar as células T a partir do inóculo diminuíram a incidência de GVHD, mas também reduziram o efeito enxerto *versus* leucemia, que é normalmente crítico no tratamento de leucemias por esse tipo de transplante. As preparações de CTHs depletadas de células T também tendem a enxertar fracamente, talvez porque as células T maduras produzem fatores estimuladores de colônias que auxiliam no repovoamento das células-tronco.

Embora a GVHD seja iniciada por células T enxertadas que reconhecem aloantígenos do hospedeiro, as células efetoras que causam lesão nas

células epiteliais não estão bem definidas. Em exames histológicos, as células NK estão frequentemente associadas às células epiteliais em processo de morte, sugerindo que as células NK são importantes efetoras da GVHD aguda. Os CTLs $CD8^+$ e as citocinas também parecem estar envolvidos na lesão tecidual da GVHD aguda.

A relação entre a GVHD crônica e GVHD aguda não é conhecida e levanta questões semelhantes àquelas relacionadas à rejeição crônica e à rejeição aguda de aloenxertos. Por exemplo, a GVHD crônica pode refletir a fibrose de cicatrização de feridas, secundária à perda aguda de células epiteliais. No entanto, a GVHD crônica pode surgir sem evidências de GVHD aguda prévia. Uma explicação alternativa é de que a GVHD crônica representa uma resposta à isquemia causada pela lesão vascular.

Tanto a GVHD aguda quanto a crônica são comumente tratadas com imunossupressão intensa (p. ex.: altas doses de esteroides), mas muitos pacientes não respondem bem à terapia. Falhas terapêuticas podem acontecer porque esses tratamentos têm como alvo apenas alguns dos muitos mecanismos efetores em jogo na GVHD, e alguns tratamentos podem depletar as Tregs, que são importantes para a prevenção da GVHD. Em decorrência da sua alta mortalidade, a GVHD aguda representa o maior obstáculo para o sucesso no transplante de CTHs. As terapias experimentais em desenvolvimento incluem anticorpos antiTNF e a transferência de Tregs.

Imunodeficiência após o Transplante de Células-tronco Hematopoiéticas

O transplante de CTHs é frequentemente acompanhado por imunodeficiência clínica. Vários fatores podem contribuir para as respostas imunes defeituosas nos receptores. Os receptores do transplante podem não ser capazes de regenerar um novo repertório completo de linfócitos. A radioterapia e a quimioterapia usadas para preparar os receptores para o transplante podem depletar as células de memória e os plasmócitos de longa vida do paciente, e pode levar um longo tempo para se regenerar essas populações.

A consequência da imunodeficiência é que os receptores de transplante de CTHs são suscetíveis a infecções virais, especialmente infecção por citomegalovírus, além de muitas infecções bacterianas e fúngicas. Esses receptores também são suscetíveis aos linfomas da célula B provocados pelo vírus Epstein-Barr. As imunodeficiências dos receptores de transplantes de CTHs podem ser mais graves do que as dos pacientes

imunodeprimidos convencionalmente. Portanto, os receptores normalmente recebem tratamento profilático com antibióticos, profilaxia antiviral para prevenir infecções por citomegalovírus, a profilaxia antifúngica para impedir a infecção invasiva por *Aspergillus*, e infusões de IVIG de manutenção. Os receptores são também imunizados contra infecções comuns para restaurar a imunidade protetora perdida após o transplante.

Há um grande interesse no uso de células-tronco pluripotentes para reparar tecidos que têm pouca capacidade regenerativa natural, tais como o músculo cardíaco, o cérebro e a medula espinal. Uma abordagem é o uso de células-tronco embrionárias, que são células-tronco pluripotentes derivadas da fase de blastocisto dos embriões humanos. Embora as células-tronco embrionárias ainda não tenham sido amplamente utilizadas clinicamente, é provável que uma barreira essencial para enxertos bem-sucedidos seja sua aloantigenicidade e rejeição pelo sistema imunológico do receptor. Uma possível solução para isso pode ser o uso de células-tronco pluripotentes induzidas (iPS, do inglês *induced pluripotent stem cells*), que podem ser derivadas de tecidos somáticos adultos pela transdução de determinados genes. A vantagem imunológica da abordagem usando iPS é que essas células podem ser derivadas de células somáticas coletadas do paciente, e, portanto, não serão rejeitadas. Outra solução em investigação no momento é a remoção de genes do MHC das células-tronco embrionárias alogênicas por meio da tecnologia de edição do genoma CRISPR-Cas9.

Resumo

- O transplante de tecidos de um indivíduo para um receptor geneticamente não idêntico leva a uma resposta imunológica específica chamada rejeição que pode destruir o enxerto. Os principais alvos moleculares da rejeição do aloenxerto são as moléculas do MHC de classe I e classe II alogênicas.
- Moléculas de MHC alogênicas intactas podem ser apresentadas pelas APCs do doador às células T do receptor (reconhecimento direto), ou as moléculas de MHC alogênicas podem ser internalizadas pelas APCs do hospedeiro que entram no enxerto ou residem nos órgãos linfoides drenantes, e serem processadas e apresentadas às células T, como peptídeos associados às moléculas do MHC próprias (reconhecimento indireto).
- A frequência de células T capazes de reconhecer as moléculas do MHC alogênicas é muito alta comparada com as células T, que reconhecem qualquer peptídeo microbiano ligado ao MHC próprio, o que explica porque a resposta aos aloantígenos é muito mais forte do que a resposta a antígenos estranhos convencionais.
- A rejeição do enxerto é mediada pelas células T, incluindo os CTLs que matam as células do enxerto e células T auxiliares que causam inflamação mediada por citocinas (semelhantes às reações de DTH) e por anticorpos.
- Vários mecanismos efetores causam a rejeição de enxertos de órgãos sólidos. Os anticorpos preexistentes específicos para os antígenos do grupo sanguíneo do doador, para o MHC ou para outros antígenos causam rejeição hiperaguda caracterizada por trombose vascular do enxerto. As células T alorreativas e os anticorpos produzidos em resposta ao enxerto causam danos à parede do vaso sanguíneo e morte das células do parênquima, denominada rejeição aguda. A rejeição crônica é caracterizada pela fibrose e estenose arterial (vasculopatia do enxerto), que pode ser decorrente de reações inflamatórias mediadas por células T e citocinas.
- A rejeição de enxertos pode ser prevenida ou tratada por imunossupressão do hospedeiro e minimizando a imunogenicidade do enxerto (limitando diferenças alélicas do MHC). A maior parte da imunossupressão é dirigida às respostas

das células T e implica no uso de fármacos citotóxicos, agentes imunossupressores específicos ou anticorpos anticélulas T. Os agentes imunossupressores mais amplamente utilizados têm como alvo a calcineurina, mTOR, e a síntese de DNA dos linfócitos. A imunossupressão é frequentemente combinada com fármacos anti-inflamatórios, tais como os corticosteroides, que inibem a síntese de citocinas por macrófagos e outras células.

- Os pacientes que recebem transplantes de órgãos sólidos podem se tornar imunodeficientes devido à sua terapia e são suscetíveis a infecções virais e tumores malignos.
- O transplante xenogênico de órgãos sólidos é limitado pela presença de anticorpos naturais contra antígenos carboidratos nas células de espécies discordantes e que causam a rejeição hiperaguda. Outros mecanismos de falência do xenotransplante incluem a rejeição vascular aguda mediada por anticorpos, resposta imune mediada por células T a moléculas do MHC xenogênicas, e efeitos pró-trombóticos do endotélio xenogênico em plaquetas humanas e proteínas da coagulação.
- Os antígenos do grupo sanguíneo ABO são estruturas de carboidratos polimórficos presentes nas células sanguíneas e no endotélio que limitam as transfusões e alguns transplantes de órgãos sólidos entre os indivíduos. Os anticorpos naturais IgM anti-A ou anti-B preexistentes estão presentes em indivíduos que não expressam os antígenos A ou B em suas células, respectivamente, e esses anticorpos podem causar reações transfusionais e rejeição hiperaguda do aloenxerto.
- Antígenos Rh são proteínas presentes nas hemácias que podem estimular respostas de anticorpos IgG em mulheres Rh negativas portadoras de fetos Rh positivos. Esses anticorpos anti-Rh podem causar a doença hemolítica em fetos Rh positivos durante gestações subsequentes.
- Os transplantes de células-tronco hematopoiéticas (CTHs) são realizados para o tratamento de leucemias e de defeitos genéticos restritos às células hematopoiéticas. Transplantes de CTHs são suscetíveis à rejeição, e os receptores exigem intensa imunossupressão preparatória. Além disso, os linfócitos T presentes nos enxertos de CTHs podem responder aos aloantígenos do hospedeiro e causar a doença do enxerto-*versus*-hospedeiro (GVHD). A GVHD aguda é caracterizada pela morte de células epiteliais na pele, trato intestinal e fígado que pode ser

fatal. A GVHD crônica é caracterizada por fibrose e atrofia de um ou mais desses mesmos órgãos-alvo, assim como os pulmões, e também pode ser fatal. Os receptores de transplantes de CTHs também desenvolvem frequentemente uma imunodeficiência grave, tornando-os suscetíveis a infecções.

Referências Sugeridas

Reconhecimento e Rejeição de Transplantes Alogênicos

Amore A. Antibody-mediated rejection. *Curr Opin Organ Transplant*. 2015;20:536–542.

Baldwin 3rd WM, Valujskikh A, Fairchild RL. Antibody-mediated rejection: emergence of animal models to answer clinical questions. *Am J Transplant*. 2010;10:1135–1142.

Colvin RB, Smith RN. Antibody-mediated organ-allograft rejection. *Nat Rev Immunol*. 2005;5:807–817.

DeWolf S, Shen Y, Sykes M. A new window into the human alloresponse. *Transplantation*. 2016;100(8):1639–1649.

Ford ML. T cell cosignaling molecules in transplantation. *Immunity*. 2016;44:1020–1033.

Gardner D, Jeffery LE, Sansom DM. Understanding the CD28/CTLA-4 (CD152) pathway and its implications for costimulatory blockade. *Am J Transplant*. 2014;14:1985–1991.

Li XC, Rothstein DM, Sayegh MH. Costimulatory pathways in transplantation: challenges and new developments. *Immunol Rev*. 2009;229:271–293.

Nankivell BJ, Alexander SI. Rejection of the kidney allograft. *NEJM*. 2010;363:1451–1462.

Transplante Clínico

Baldwin 3rd WM, Valujskikh A, Fairchild RL. Mechanisms of antibody-mediated acute and chronic rejection of kidney allografts. *Curr Opin Organ Transplant*. 2016;21:7–14.

Chinen J, Buckley RH. Transplantation immunology: solid organ and bone marrow. *J Allergy Clin Immunol*. 2010;125:S324–S335.

McDonald-Hyman C, Turka LA, Blazar BR. Advances and challenges in immunotherapy for solid organ and hematopoietic stem cell transplantation. *Sci Transl Med*. 2015;7: 280rv282.

Zwang NA, Turka LA. Transplantation immunology in 2013: new approaches to diagnosis of rejection. *Nat Rev Nephrol*. 2014;10:72–74.

Imunossupressão e Indução de Tolerância aos Aloenxertos

Gibbons C, Sykes M. Manipulating the immune system for anti-tumor responses and transplant tolerance via mixed hematopoietic chimerism. *Immunol Rev*. 2008;223:334–360.

Griesemer A, Yamada K, Sykes M. Xenotransplantation: immunological hurdles and progress toward tolerance. *Immunol Rev*. 2014;258:241–258.

Halloran PF. Immunosuppressive drugs for kidney transplantation. *NEJM*. 2004;351:2715–2729.

Maltzman JS, Turka LA. T-cell costimulatory blockade in organ transplantation. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*. 2013;3:a015537.

Ville S, Poirier N, Blancho G, Vanhove B. Co-stimulatory blockade of the CD28/CD80-86/CTLA-4 balance in transplantation: impact on memory T cells? *Front Immunol*. 2015;6:411.

Wojciechowski D, Vincenti F. Costimulatory blockade and use of mTOR inhibitors: avoiding injury part 2. *Adv Chronic Kidney Dis*. 2016;23:306–311.

Xenotransplante

Griesemer A, Yamada K, Sykes M. Xenotransplantation: immunological hurdles and progress toward tolerance. *Immunol Rev*. 2014;258:241–258.

CAPÍTULO 18

Imunidade aos Tumores

VISÃO GERAL DA IMUNIDADE AOS TUMORES

ANTÍGENOS TUMORAIS
- Neoantígenos: Antígenos Codificados por Genes Mutantes
- Antígenos de Vírus Oncogênicos
- Proteínas Celulares Superexpressas
- Outros Antígenos de Tumores

RESPOSTAS IMUNES AOS TUMORES
- Linfócitos T
- Anticorpos
- Células *Natural Killer*
- Macrófagos
- O Papel da Imunidade Inata e Adaptativa na Promoção do Crescimento Tumoral

EVASÃO DAS RESPOSTAS IMUNES PELOS TUMORES
- Pontos de Controle Imunes: Inibição de Respostas Imunes
- Perda da Expressão de Antígeno Tumoral

IMUNOTERAPIA PARA TUMORES
- Bloqueio de Pontos de Controle: Bloqueando Vias de Inibição das Células T
- Vacinação com Antígenos Tumorais
- Terapia Celular Adotiva com Células T Antitumorais
- Imunoterapia Passiva com Anticorpos
- Outras Abordagens para Estimular a Imunidade Antitumoral

RESUMO

O câncer é um dos principais problemas de saúde em todo o mundo, e uma das causas mais importantes de morbidade e mortalidade em crianças e adultos. A letalidade dos tumores malignos se deve ao seu crescimento descontrolado junto aos tecidos normais, causando dano e comprometimento funcional. O fenótipo maligno dos cânceres resulta da regulação defeituosa da proliferação celular, resistência das células tumorais à morte apoptótica, e à habilidade das células tumorais de invadir os tecidos do hospedeiro e metastatizar para sítios distantes. Além disso, como reflexo do nosso conhecimento aprimorado acerca das respostas imunes contra cânceres e o sucesso terapêutico da imunoterapia do câncer, hoje incluímos a habilidade das células tumorais de evadir os mecanismos de defesa imune do hospedeiro como uma das características marcantes do câncer. O conceito de **imunovigilância** do câncer, proposto por Macfarlane Burnet nos anos 1950, estabelece que uma função fisiológica do sistema imune é reconhecer e destruir clones de células transformadas antes de seu desenvolvimento em tumores, bem como matar tumores já formados. A existência da imunovigilância foi demonstrada pelo aumento na incidência de alguns tipos de tumores em seres humanos e animais de experimentação imunocomprometidos. Mais recentemente, aprendemos que as respostas imunes contra muitos cânceres humanos são ineficazes, mas podem ser reativadas com sucesso para destruir tumores. Neste capítulo, descreveremos os tipos de antígenos expressos por tumores malignos, como o sistema imune reconhece e responde a esses antígenos, como os tumores evadem o sistema imune do hospedeiro, e a aplicação das abordagens imunológicas para o tratamento do câncer.

Visão Geral da Imunidade aos Tumores

Várias características dos antígenos tumorais e das respostas imunes aos tumores são fundamentais para uma compreensão da imunidade tumoral e para o desenvolvimento de estratégias usadas na imunoterapia do câncer.

Tumores estimulam respostas imunes adaptativas específicas que podem prevenir ou limitar o crescimento e a disseminação dos cânceres. Estudos clínicos, análises patológicas dos tumores e experimentos com animais estabeleceram que, embora as células tumorais sejam derivadas de células do hospedeiro, os tumores elicitam respostas imunes nesses hospedeiros. A maioria das evidências indica que as respostas imunes clinicamente relevantes envolvem as células T, especialmente os linfócitos T citotóxicos $CD8^+$ (CTLs, do inglês, *cytotoxic T lymphocytes*). Estudos histopatológicos mostram que muitos tumores são circundados por infiltrados de células mononucleares compostos por linfócitos T e macrófagos, e que linfócitos e macrófagos ativados estão presentes nos linfonodos que drenam os sítios de crescimento tumoral (Fig. 18.1A-C). Análises quantitativas desses infiltrados em cânceres de cólon e em alguns outros tipos de tumores revelaram que números aumentados de células T, em particular CTLs $CD8^+$ e células Th1 $CD4^+$, estão associados a um melhor prognóstico, em comparação aos tumores que contêm um número menor destas células (Fig. 18.1D).

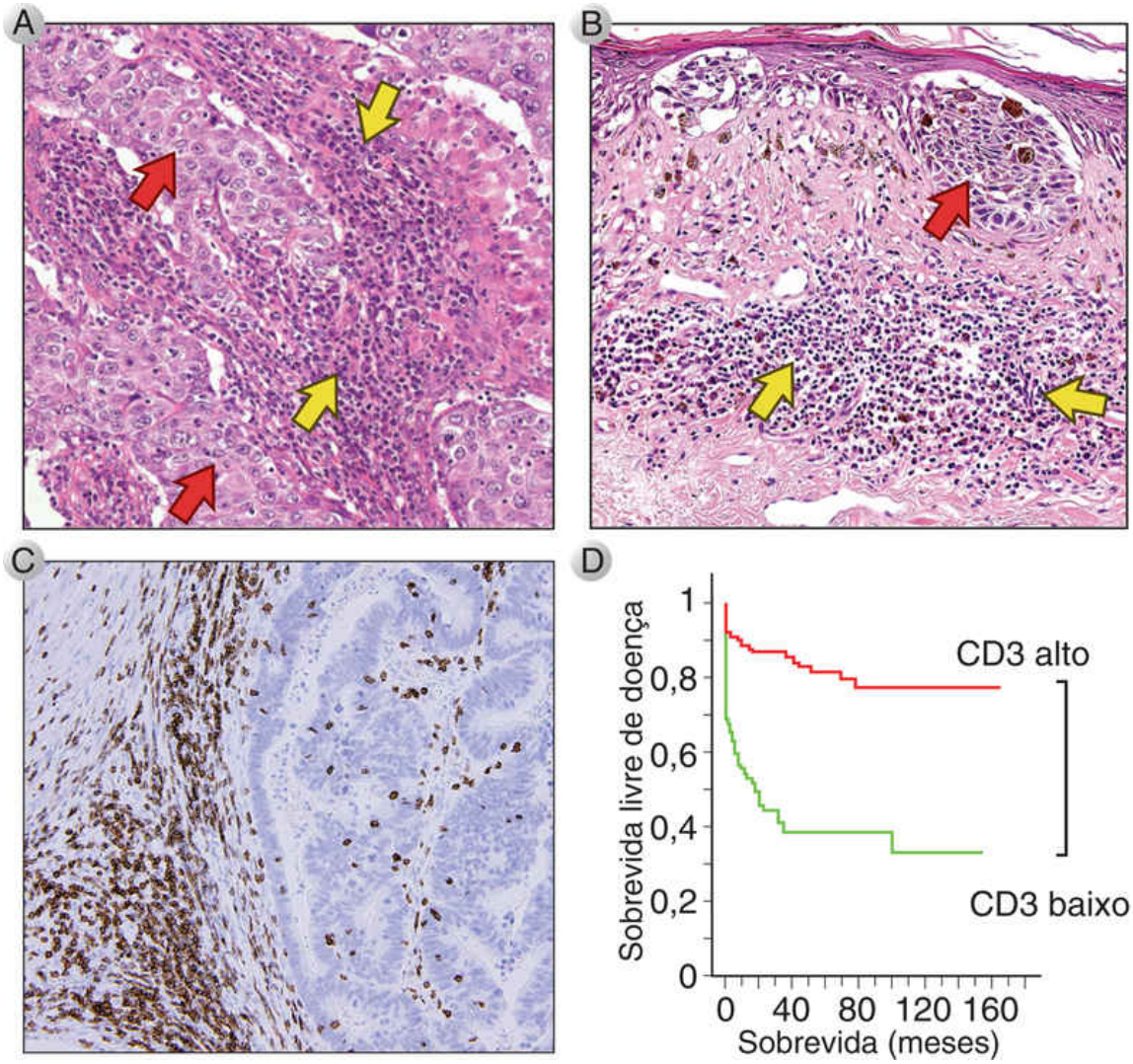


FIGURA 18.1 Inflamação linfocítica associada a tumores. Certos tipos de tumor estão mais frequentemente associados a infiltrados linfocíticos, entre os quais o carcinoma medular da mama **(A)** e o melanoma maligno **(B)**. As *setas vermelhas* indicam células malignas. As *setas amarelas* indicam infiltrados inflamatórios ricos em linfócitos. A coloração imuno-histoquímica de tumores ressecionados pode ser usada para enumerar os diferentes tipos de células T associadas ao tumor, como um infiltrado de células T $CD8^+$ em um carcinoma de cólon. As células tumorais aparecem em azul e as células T $CD8^+$ aparecem em marrom **(C)**. A densidade aumentada de células T $CD3^+$ na margem invasiva do tumor, detectada desse modo, está associada a uma sobrevida livre de doença mais prolongada **(D)**. *(**C,** Cortesia de Brigham and Women's Hospital Department of Pathology. **D,** De Galon J, Costes A, Sanchez-Cabo F: Type, density, and location of immune cells within human colorectal tumors predict clinical outcome, Science 313:1960–1964, 2006.)*

A primeira demonstração experimental de que os tumores podem induzir respostas imunes protetoras veio de estudos com tumores transplantados realizados na década de 1950. Um sarcoma pode ser induzido em um camundongo consanguíneo pintando sua pele com o carcinógeno químico metilcolantreno (MCA). Se o tumor MCA-induzido for excisado e transplantado em outros camundongos singênicos, haverá crescimento tumoral. Em contraste, se células do tumor original forem transplantadas de volta no hospedeiro original, o camundongo rejeitará o transplante e não haverá crescimento tumoral. O mesmo camundongo que se tornou imune ao seu próprio tumor não rejeita os tumores MCA-induzidos produzidos em outros camundongos, os quais têm diferentes mutações MCA-induzidas e expressam antígenos tumorais distintos. Adicionalmente, a transferência de células T do animal portador de tumor para um animal livre de tumor pode transmitir a imunidade protetora contra o tumor. Portanto, as respostas imunes aos tumores exibem as características que definem a imunidade adaptativa — a saber, especificidade, memória e um papel-chave dos linfócitos. Trabalhos subsequentes mostraram que a frequência de tumores espontâneos ou MCA-induzidos em camundongos geneticamente imunodeficientes é maior, em comparação ao que ocorre em camundongos imunologicamente normais, estabelecendo adicionalmente um papel do sistema imune na imunovigilância tumoral. Seres humanos imunodeficientes, como pacientes com Aids ou receptores de transplante que receberam fármacos imunossupressores, apresentam risco aumentado de desenvolvimento de tumores, muitos dos quais com etiologia viral conhecida (refletindo a suscetibilidade aumentada à infecção viral), mas também alguns com etiologia indeterminada.

As respostas imunes frequentemente falham em prevenir o crescimento de tumores. Pode haver diversos motivos para a imunidade antitumoral ser incapaz de erradicar os cânceres. Primeiro, muitos tumores desenvolveram mecanismos especializados para subverter as respostas imunes do hospedeiro. De fato, tumores estabelecidos podem inibir as respostas imunes por vários mecanismos. Retornaremos a esses mecanismos de inibição mais adiante, neste capítulo. Em segundo lugar, as células tumorais perdem a expressão de antígenos que podem ser reconhecidos pelo sistema imune do hospedeiro. Até mesmo tumores que deflagram respostas imunes efetivas podem se tornar menos imunogênicos com o passar de tempo, porque seus subclones que não expressam antígenos imunogênicos têm uma vantagem seletiva de

sobrevida. Em terceiro lugar, o rápido crescimento e disseminação de um tumor pode sobrepujar a capacidade do sistema imune de controlar efetivamente o tumor, o que requer que todas as células malignas sejam eliminadas.

As respostas imunes adaptativas inefetivas aos cânceres podem ser superadas por estratégias terapêuticas que estimulam respostas deste tipo, de modo que as células T antitumorais podem ser ativadas para matar efetivamente as células tumorais. Conforme discutiremos adiante, ainda neste capítulo, essa percepção estimulou novos rumos na imunoterapia do câncer, em que a intensificação da resposta antitumoral do hospedeiro é a meta do tratamento.

A existência de imunidade antitumoral específica implica que os tumores devem expressar antígenos reconhecidos como estranhos pelo hospedeiro. A natureza e significado destes antígenos são descritos a seguir.

Antígenos Tumorais

A maioria dos antígenos tumorais que elicitam respostas imunes protetoras são neoantígenos produzidos por genes mutantes em diferentes clones de células tumorais (Fig. 18.2). Como esses antígenos não são produzidos por células sadias e, portanto, normalmente não estão presentes, o sistema imune não os tolera. A moderna tecnologia de sequenciamento de nova geração revelou a grande diversidade dos neoantígenos produzidos em diferentes tumores. Em tumores induzidos por vírus, os antígenos tumorais são principalmente proteínas estranhas produzidas por vírus oncogênicos, e a resposta imune observada é essencialmente uma resposta antiviral. Alguns antígenos tumorais deflagradores de imunidade protetora são expressos normalmente no início do desenvolvimento e de forma aberrante em tumores, ou são superexpressos em tumores. A ênfase moderna nos antígenos tumorais que são indutores e alvos de imunidade adaptativa tem relevância evidente para a compreensão das respostas imunes aos tumores e para o desenvolvimento de formas de aproveitar essas respostas. No passado, o termo *antígeno tumoral* era usado para abranger muitas moléculas diferentes expressas por células tumorais, quer estimulassem ou não respostas imunes protetoras.

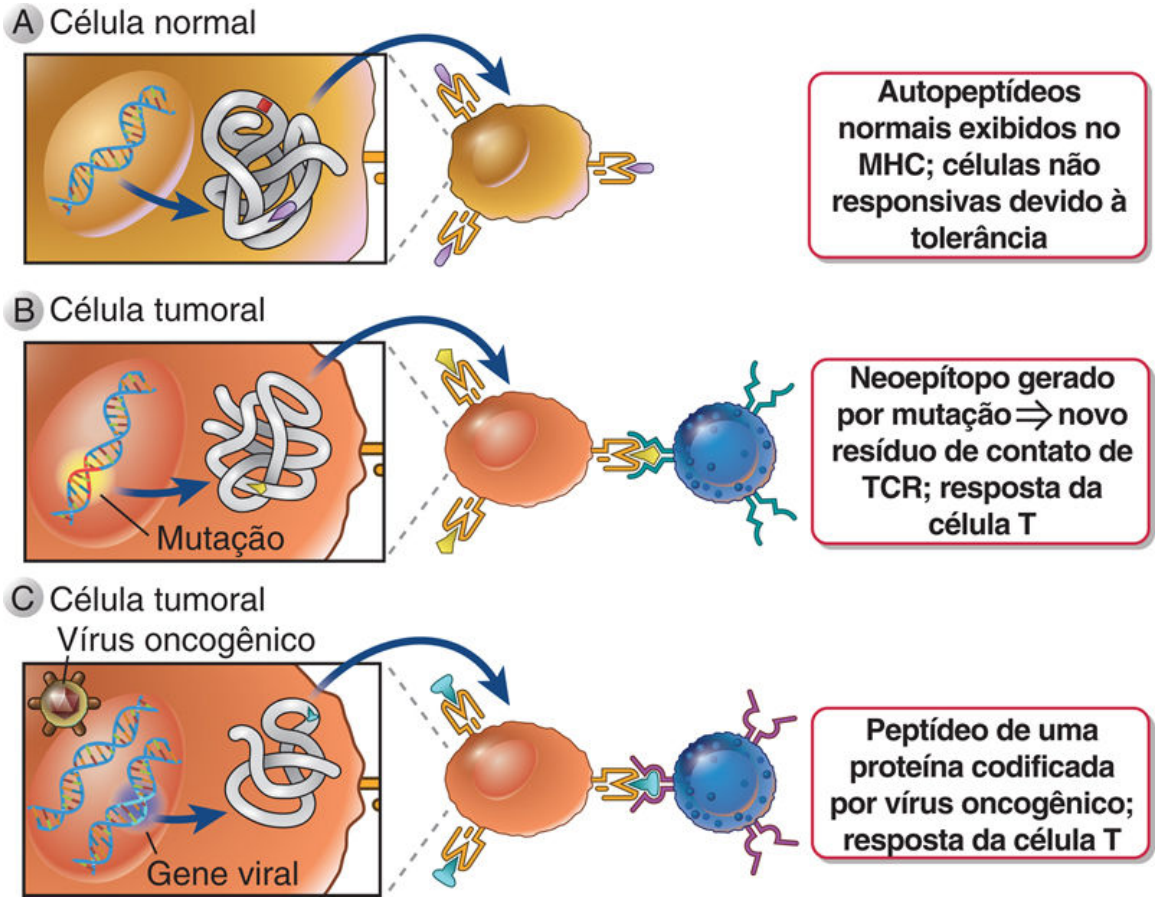


FIGURA 18.2 Neoantígenos tumorais.
Os neoantígenos tumorais produzidos por mutações somáticas podem alterar uma autoproteína a qual o paciente é tolerante **(A)** e transformá-la em outra que contenha um peptídeo com um novo resíduo de contato de TCR reconhecido pelas células T **(B)**. Os tumores causados por vírus oncogênicos produzem proteínas virais que estimulam as células T $CD8^+$ **(C)**.

Neoantígenos: Antígenos Codificados por Genes Mutantes

Os neoantígenos proteicos de tumores são principalmente produtos de genes aleatoriamente mutados ("mutações passageiro"), refletindo a instabilidade gênica das células cancerosas ou, menos comumente, produtos de oncogenes mutantes ou genes supressores tumorais envolvidos na oncogênese ("mutações condutoras"). As novas tecnologias de sequenciamento de DNA identificaram peptídeos mutantes oriundos de tumores individuais que elicitam respostas de célula T em pacientes portadores de tumor (Fig. 18.2B). Em geral, esses neoantígenos são

produzidos por mutações pontuais ou deleções em genes não relacionados ao desenvolvimento dos tumores. As proteínas codificadas geram novos peptídeos de ligação ao MHC que são apresentados a células T e são estranhos ao sistema imune, uma vez que normalmente não estão presentes. Os neoantígenos muitas vezes são proteínas citosólicas ou nucleares degradadas por proteassomos, podendo ser apresentados em moléculas do complexo principal de histocompatibilidade (MHC, do inglês, *major histocompatibility complex*) de classe I em células tumorais. Após a fagocitose por células dendríticas, os neoantígenos também podem entrar na via de apresentação antigênica do MHC de classe II ou sofrerem apresentação cruzada na via de classe I. A aplicação de novas tecnologias para a identificação de antígenos tumorais está sendo usada para o desenvolvimento de vacinas antitumorais, como discutido adiante neste capítulo (Fig. 18.9).

O mesmo tipo de tumor em diferentes pacientes pode expressar conjuntos distintos de neoantígenos. Em adição, mesmo em um único paciente, à medida que o tumor evolui pode adquirir novas mutações e, assim, produzir novas coleções de neoantígenos. Esses achados têm levado ao conceito de "neoantígenos clonais", implicando variabilidade entre clones de células tumorais. A identificação desses neoantígenos é importante para o acompanhamento das respostas imunes aos tumores em pacientes individuais e para identificar antígenos para o desenvolvimento de vacinas.

Antígenos de Vírus Oncogênicos

Os produtos de vírus oncogênicos atuam como antígenos tumorais e elicitam respostas de células T específicas que podem servir para erradicar tumores induzidos por vírus. Os vírus estão implicados no desenvolvimento de vários tumores em seres humanos e animais de experimentação. Entre os seres humanos, são exemplos o vírus Epstein-Barr (EBV), que está associado aos linfomas de célula B e ao carcinoma nasofaríngeo; e o papilomavírus humano (HPV), que está associado aos carcinomas da cérvice uterina, orofaringe e outros sítios. Na maioria desses tumores induzidos por vírus de DNA, os antígenos proteicos codificados pelo vírus são encontrados no núcleo, citoplasma ou membrana plasmática das células tumorais (Fig. 18.2C). Essas proteínas virais endogenamente sintetizadas podem ser processadas e apresentadas por moléculas do MHC na superfície da célula tumoral. Alguns vírus, como os das hepatites B e C, estão associados ao câncer, mas não são

oncogênicos. Acredita-se que esses vírus promovam tumores induzindo reações inflamatórias crônicas em que são gerados fatores de crescimento tumorigênicos e outros sinais. As células tumorais podem conter antígenos virais, mas isso é altamente variável.

A capacidade da imunidade adaptativa de prevenir o crescimento de tumores induzidos por vírus de DNA foi estabelecida por muitas observações. Exemplificando, os linfomas associados ao EBV e os cânceres cervicais associados ao HPV surgem com mais frequência em indivíduos imunossuprimidos, como os receptores de aloenxertos submetidos à terapia imunossupressora e os pacientes com a síndrome da imunodeficiência adquirida (Aids do inglês *acquired immunodeficiency syndrome*). A eficácia da imunidade adaptativa vírus-específica para prevenção de tumores pode ser por causa, em grande parte, da prevenção da infecção e eliminação de células infectadas antes do desenvolvimento dos cânceres. A vacinação para prevenção da infecção por esses vírus também diminui a incidência dos cânceres associados aos vírus. Uma vacina contra o HPV diminuiu a incidência de lesões cervicais pré-cancerosas em mulheres vacinadas. A vacina é composta por proteínas recombinantes do capsídeo do HPV oriundas das cepas oncogênicas mais comuns de HPV, as quais formam partículas semelhantes ao vírus sem o genoma viral. A vacinação contra o vírus da hepatite B diminuiu a incidência do câncer hepático associado ao HBV.

Proteínas Celulares Superexpressas

Alguns antígenos tumorais são os produtos de genes que estão silenciados em células normais e desreprimidos em células tumorais, ou são proteínas produzidas por células normais, mas que são produzidas em excesso por tumores. Embora esses antígenos não sejam inerentemente estranhos para o hospedeiro, mesmo assim estimulam respostas imunes. Os antígenos normalmente podem ser expressos por um tempo limitado ou em um local particular — por exemplo, apenas durante o desenvolvimento embrionário ou somente em células imunoprivilegiadas — não havendo, por isso, tolerância imunológica duradoura a essas proteínas. A expressão desses antígenos em um tumor mais tardiamente na vida, ou em locais não protegidos contra as células imunes, pode ser suficiente para estimular respostas imunes. A quantidade de antígeno produzido em um paciente com câncer pode ser anormalmente alta, devido à superexpressão em cada célula tumoral ou por causa de uma abundância de células tumorais, e isto também pode ser suficiente para elicitar uma resposta imune ativa.

As principais categorias de antígenos tumorais não mutantes que são mais abundantes em tumores do que nos tecidos normais incluem os antígenos de câncer/testículo, proteínas codificadas por genes amplificados, e antígenos de diferenciação tecidual (Fig. 18.3). A expressão de somente alguns desses antígenos tumorais estruturalmente inalterados é suficientemente diferente da expressão em células normais, em termos de estimulação de imunidade protetora nos pacientes. Entretanto, muitos desses antígenos tumorais são alvos para a terapia com anticorpos e candidatos em potencial para vacinas tumorais.

- ***Os antígenos de câncer/testículo são proteínas expressas em gametas e trofoblastos, bem como em muitos tipos de cânceres, mas não em tecidos somáticos normais*** (Fig. 18.3A). Os primeiros antígenos de câncer/testículo identificados foram os antígenos associados ao melanoma (MAGE, do inglês, *melanoma-associated antigens*). São expressos em melanomas e muitos outros tipos de tumores, bem como no testículo normal. Subsequentemente, várias outras famílias de genes não relacionados foram identificadas, as quais codificam antígenos do melanoma reconhecidos por clones de CTLs derivados de pacientes com melanoma. As proteínas MAGE e esses outros antígenos de melanoma são silenciosos na maioria dos tecidos normais, exceto no testículo e trofoblasto placentário, mas são expressos em diversos tumores malignos. Mais de 200 genes de câncer/testículo em mais de 40 famílias de genes diferentes foram identificados. Cerca de metade são codificados por genes localizados no cromossomo X, enquanto o restante está distribuído nos demais cromossomos. Foi postulado que na maioria das células somáticas, os genes codificadores dessas proteínas são silenciados por mecanismos epigenéticos, como a metilação das regiões promotoras, porém seus *loci* são desmetilados nas células cancerosas permitindo a expressão gênica.
- ***Algumas proteínas são expressas em níveis anormalmente altos nas células tumorais porque os genes codificadores dessas proteínas são amplificados*** (Fig. 18.3B). Um exemplo desse tipo de proteína é uma variante do fator de crescimento epidérmico oncogênico chamada Her2/Neu, que é superexpressa em alguns cânceres de mama. Não há evidência de que a proteína deflagre respostas imunes protetoras em pacientes, provavelmente por estar presente nas células normais e induzir tolerância. Um

anticorpo monoclonal dirigido contra Her2 é usado para tratar pacientes cujos tumores apresentam alta expressão de Her2.

- ***Os antígenos de diferenciação são encontrados normalmente em células tumorais e nos tipos celulares de origem dos tumores, mas não em células de outros tecidos*** (Fig. 18.3C). Dois exemplos desses antígenos de diferenciação em melanomas são a tirosinase, uma enzima envolvida na biossíntese da melanina, e MART-1 (também chamado melan-A), uma proteína requerida para a função do melanossomo. Ambos, CTLs $CD8^+$ e células T auxiliares $CD4^+$ específicos para tirosinase ou peptídeos MART-1, são encontrados em pacientes com melanoma, talvez pelos antígenos serem expressos em níveis elevados devido ao grande número de células tumorais. Entretanto, é possível que, em muitos casos, os antígenos de diferenciação não induzam respostas imunes por serem autoantígenos normais. Mesmo nessas situações, os antígenos de diferenciação são importantes em oncologia porque auxiliam no diagnóstico preciso dos tipos tumorais e servem de alvos para a imunoterapia passiva. Exemplificando, alguns linfomas e leucemias surgem a partir de células B e expressam marcadores de superfície característicos dessa linhagem, como CD20. As terapias com anticorpo e célula T dirigidas contra o CD20 são usadas para tratar esses cânceres.

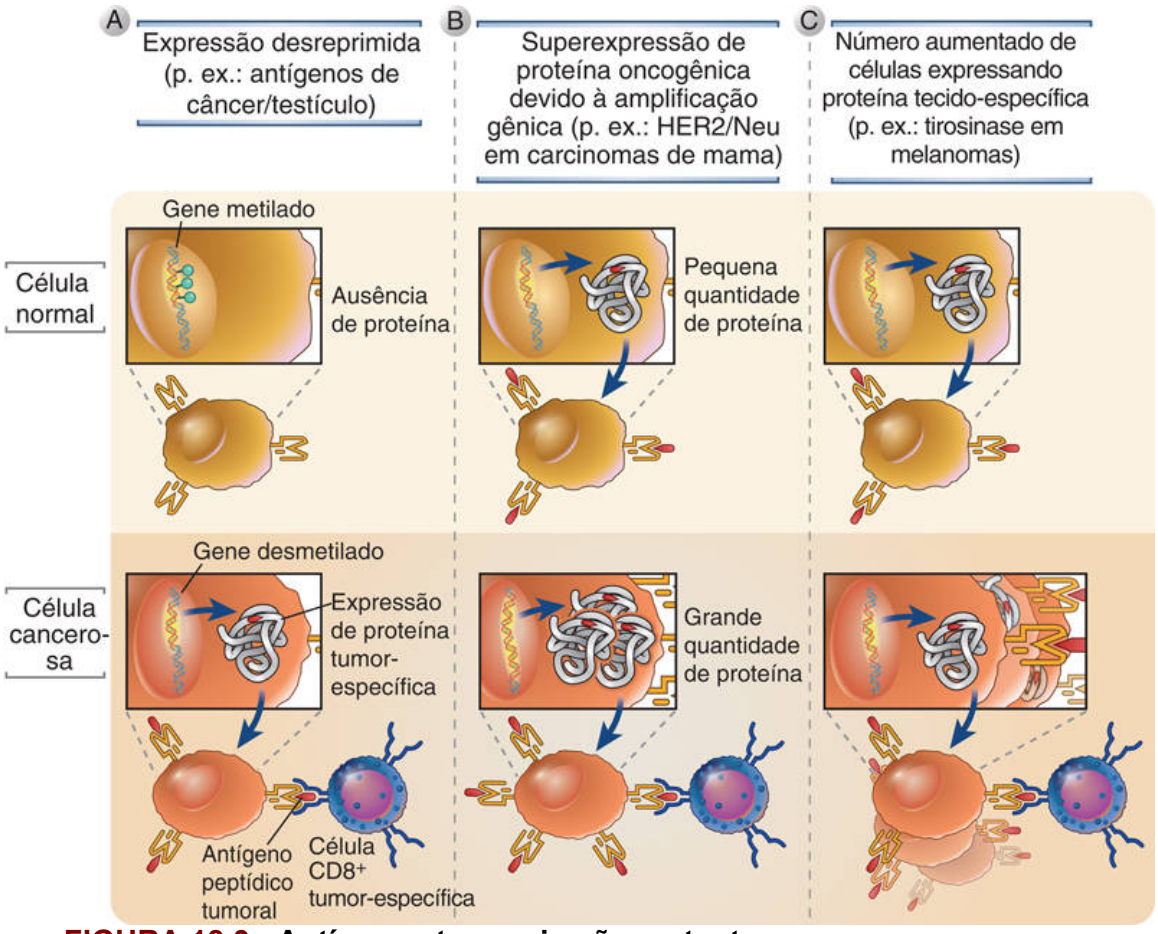


FIGURA 18.3 Antígenos tumorais não mutantes.
As proteínas não mutantes e que são expressas de forma mais abundante do que as células normais podem induzir resposta de célula T em seus hospedeiros. Muitos desses antígenos incluem proteínas codificadas por genes que normalmente não estão expressos na maioria das células dos adultos, devido à supressão epigenética, mas estão deprimidos nas células tumorais, como ocorre com os antígenos de câncer/testículo **(A)**. Alguns antígenos tumorais podem estar superexpressos em consequência de amplificações gênicas, como é o caso da proteína Her2/Neu, altamente expressa em muitos carcinomas de mama **(B)**. Os antígenos tecido-específicos são proteínas expressas tanto por células cancerosas como pelos tipos celulares normais dos quais as células tumorais derivam, como as tirosinases produzidas por melanócitos e por células de melanoma maligno. Por causa da desregulação gênica ou da abundância de células tumorais, a quantidade dessas proteínas é alta nos tumores, levando às respostas de célula T **(C)**.

Outros Antígenos de Tumores

Muitas tentativas foram feitas para detectar antígenos em células tumorais e no plasma de pacientes com câncer, por meio da produção de anticorpos contra tumores e do uso de anticorpos como reagentes de triagem. Várias classes de antígenos tumorais foram identificadas com essa abordagem. Todavia, está claro que a maioria dos antígenos é produzido até mesmo em células normais, especialmente sob condições de lesão tecidual e inflamação. Portanto, o papel desses antígenos na imunidade tumoral é incerto.

Antígenos oncofetais. A denominação "antígenos oncofetais" foi dada às proteínas que se pensava serem expressas em altos níveis em células cancerosas e tecidos fetais, mas não nos tecidos adultos. Contudo, a expressão dessas proteínas em adultos não se limita aos tumores, mas está aumentada nos tecidos e na circulação em várias condições inflamatórias, sendo que os antígenos são encontrados em pequenas quantidades até mesmo em tecidos adultos normais. Também não há evidência de que os antígenos oncofetais sejam indutores significativos de imunidade antitumoral. Assim, sua utilidade como marcadores tumorais, alvos de anticorpos ou candidatos a vacinas é limitada. Os dois antígenos oncofetais mais estudados são o antígeno carcinoembrionário (CEA) e a α-fetoproteína (AFP).

O CEA (CD66) é uma proteína de membrana altamente glicosilada que atua como molécula de adesão intercelular. Uma alta expressão de CEA normalmente é restrita às células do intestino, pâncreas e fígado durante os dois primeiros trimestres de gestação. Sua expressão está aumentada em muitos carcinomas do cólon, pâncreas, estômago e mama, e seus níveis séricos também estão aumentados nos pacientes. Por outro lado, o CEA sérico pode estar elevado no contexto de doenças não neoplásicas, como as condições inflamatórias crônicas do intestino ou fígado, daí sua utilidade clínica ser limitada. Um pequeno estudo clínico em que foram administradas células T expressando receptores antigênicos específicos para o (descritos adiante) foi abandonado, porque os pacientes desenvolveram uma grave colite como reflexo da expressão do CEA em tecidos normais.

A AFP é uma glicoproteína circulante normalmente sintetizada e secretada durante a vida fetal, pelo saco vitelínico e pelo fígado. As concentrações séricas fetais podem chegar a 2-3 mg/mL, porém as concentrações séricas em adultos são baixas. Os níveis séricos de AFP podem estar altos em pacientes com carcinoma hepatocelular, tumores de células germinativas e, ocasionalmente, em cânceres gástricos e

pancreáticos. Níveis séricos elevados de AFP às vezes são usados como indicador de tumores avançados do fígado ou de células germinativas, ou como indicador da recorrência desses tumores após o tratamento.

Antígenos glicoproteicos e glicolipídicos alterados. A maioria dos tumores humanos e experimentais expressam níveis acima do normal ou formas anormais de glicoproteínas e glicolipídeos de superfície, incluindo gangliosídeos, antígenos de grupo sanguíneo e mucinas. Os tumores costumam apresentar expressão desregulada das enzimas que sintetizam as cadeias laterais de carboidrato das mucinas, o que leva ao aparecimento de epítopos tumor-específicos nas cadeias laterais de carboidrato ou no núcleo polipeptídico anormalmente exposto. Várias mucinas têm sido o foco de estudos diagnósticos e terapêuticos. Uma dessas mucinas, chamada MUC-1, é uma proteína integral de membrana normalmente expressa apenas na superfície apical do epitélio ductal da mama, um sítio que fica relativamente escondido do sistema imune. Em alguns carcinomas, porém, MUC-1 é expressa de modo não polarizado e contém epítopos peptídicos e carboidratos tumor-específicos novos detectáveis por anticorpos monoclonais murinos. Ainda não é sabido se é possível desenvolver vacinas efetivas com esses epítopos.

Respostas Imunes aos Tumores

Ambas as respostas imunes, inata e adaptativa, podem ser detectadas em pacientes e animais de experimentação, e diversos mecanismos imunes podem matar células tumorais *in vitro*. Os desafios para os imunologistas tumorais têm sido determinar quais dos mecanismos podem contribuir de maneira significativa para a proteção contra os tumores e desenvolver terapias que intensifiquem esses mecanismos efetores de modos que sejam tumor-específicos. Avanços técnicos recentes na caracterização de respostas imunes antitumorais antígeno-específicas, bem como dados de estudos envolvendo pacientes com câncer tratados com fármacos recém-desenvolvidos que estimulam células T, indicaram que os CTLs são os mais importantes colaboradores da defesa imune contra os tumores. Nesta seção, revisaremos as evidências da imunidade antitumoral mediada por células T e outros mecanismos efetores imunes.

Linfócitos T

O principal mecanismo de imunoproteção contra tumores é o* killing *de células tumorais por CTLs CD8$^+$ (Fig. 18.4). A habilidade dos CTLs de conferir imunidade antitumoral efetiva *in vivo* é vista claramente em experimentos com animais usando tumores induzidos por carcinógeno e por vírus de DNA. Os CTLs podem exercer uma função de imunovigilância reconhecendo e destruindo células potencialmente malignas que expressam peptídeos derivados de antígenos tumorais e apresentados em associação com moléculas do MHC de classe I. CTLs tumor-específicos podem ser isolados de animais e seres humanos com tumores estabelecidos, e há evidência de que o prognóstico dos tumores humanos, incluindo tipos comuns como os carcinomas colônicos, é mais favorável quando mais CTLs estão presentes no tumor. Além disso, as células mononucleares derivadas do infiltrado inflamatório em tumores sólidos humanos, chamados linfócitos tumor-infiltrantes (TILs, do inglês, *tumor-infiltrating lymphocytes*), contêm CTLs capazes de destruir o tumor do qual derivam. É importante ressaltar que a incapacidade de detectar CTLs tumor-específicos funcionais em alguns pacientes pode ser devida aos mecanismos reguladores empregados pelo tumor para suprimir as respostas de CTL, sendo que as novas terapias que bloqueiam os mecanismos reguladores levam ao desenvolvimento de fortes respostas de CTL contra o tumor (discutido adiante).

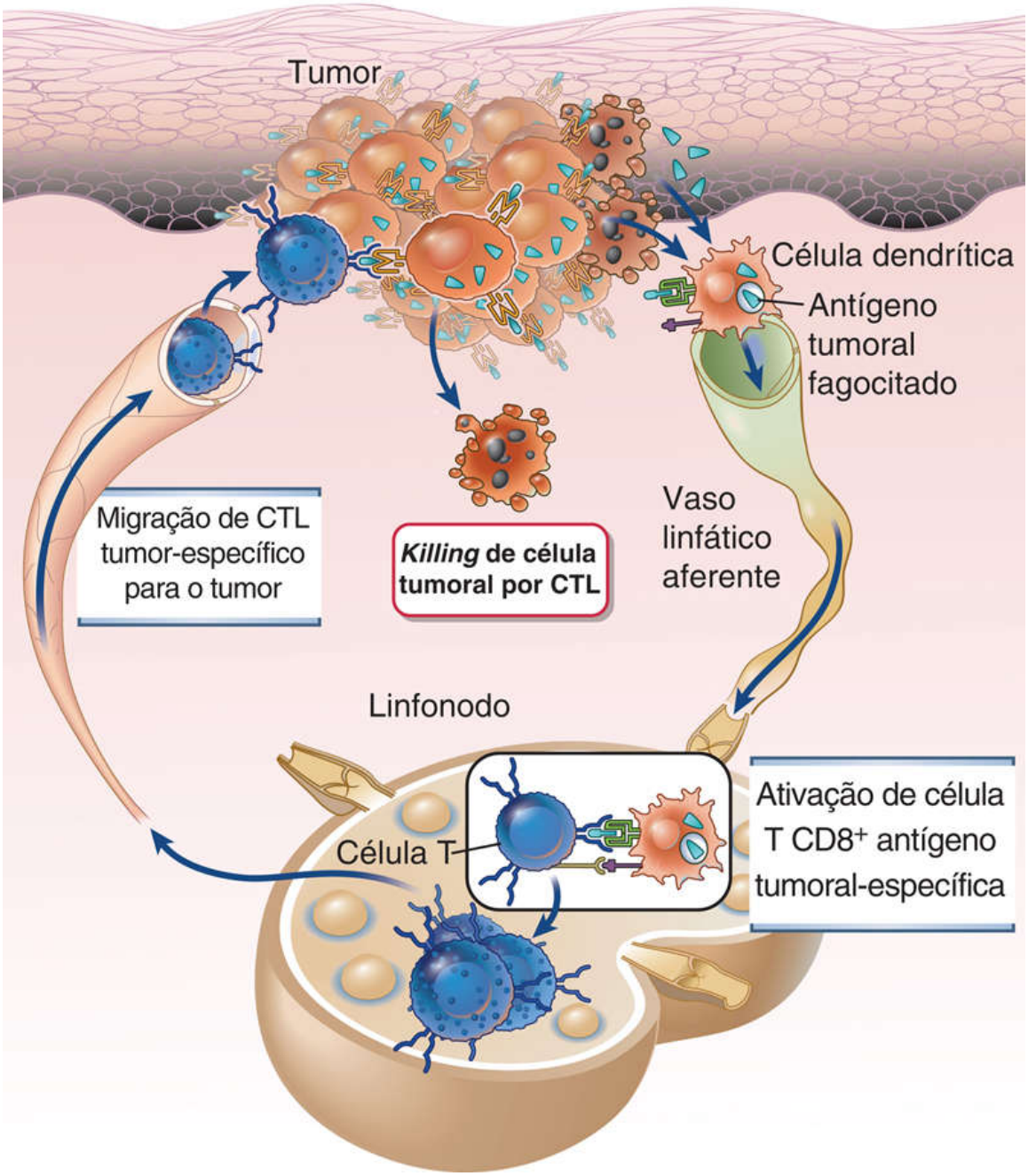


FIGURA 18.4 Resposta de linfócitos T citotóxicos (CTL) contra tumores.
Os antígenos tumorais são captados pelas células dendríticas do hospedeiro, e as respostas são iniciadas nos órgãos linfoides periféricos (secundários). Os CTLs tumor-específicos migram de volta para o tumor e matam as células tumorais. Outros mecanismos de imunidade antitumoral não são mostrados.

As respostas de células T CD8⁺ específicas para antígenos tumorais podem requerer apresentação cruzada dos antígenos tumorais pelas células dendríticas. A maioria das células tumorais não derivam de células apresentadoras de antígeno (APC, do inglês, *antigen-presenting cells*) e, portanto, não estão presentes nos órgãos linfoides secundários onde podem exibir antígenos para as células T *naive*. A maioria das células tumorais também não expressa os coestimuladores necessários para iniciar as respostas de célula T ou as moléculas do MHC de classe II necessárias à estimulação de células T auxiliares promotoras de diferenciação de células T CD8⁺. Uma provável explicação de como as respostas de células T a tumores são iniciadas é que as células tumorais ou seus antígenos são ingeridos pelas APCs do hospedeiro, particularmente as células dendríticas, e os antígenos tumorais são processados dentro das APCs. Os peptídeos derivados desses antígenos são então exibidos ligados a moléculas do MHC de classe I para o reconhecimento por células T CD8⁺. O processo de apresentação cruzada, ou *crosspriming*, foi descrito nos capítulos anteriores (Fig. 6.17). As APCs transportam os antígenos tumorais para os linfonodos e se colocalizam com as células T *naive* (Capítulo 6). Em adição, as APCs expressam coestimuladores e tanto as APCs como as células T auxiliares ativadas ao mesmo tempo fornecem os sinais necessários à diferenciação das células T CD8⁺ *naive* em CTLs tumor-específicos. Uma vez gerados, os CTLs efetores são capazes de reconhecer e matar as células tumorais em qualquer tecido, sem nenhum requerimento de coestimulação.

As células T auxiliares CD4⁺ contribuem para as respostas imunes antitumorais por meio de vários mecanismos. As respostas de célula T CD4⁺ aos antígenos tumorais comumente são encontradas em modelos animais e pacientes com câncer, enquanto a presença de células Th1, assim como de CTLs, em tumores humanos está correlacionada a um prognóstico favorável. Alguns estudos mostram benefício terapêutico decorrente da transferência adotiva de células T CD4⁺ antígeno tumoral-específicas para o hospedeiro. Os efeitos antitumorais das células Th1 podem refletir seu papel comprovado na intensificação das respostas da célula T CD8⁺ e na ativação de macrófagos, via secreção de fator de necrose tumoral (TNF, do inglês, *tumor necrosis factor*) e interferon-γ (IFN-γ). O IFN-γ pode aumentar a expressão do MHC de classe I na célula tumoral, bem como a sensibilidade à lise pelos CTLs. A importância do IFN-γ na imunidade tumoral é demonstrada pelo achado de incidência aumentada de tumores em camundongos *knockout* desprovidos dessa citocina, de seu receptor ou de moléculas sinalizadoras induzidas pelo

IFN-γ. Algumas evidências sugerem que as células T $CD4^+$ humanas que expressam granzima B e têm atividade citotóxica podem contribuir para o *killing* tumoral.

A demonstração de que os números de diferentes tipos de células T em tumores extirpados estão correlacionados com a probabilidade de doença metastática tem levado à prática de determinar uma escala imune para cânceres, destinada a avaliar o prognóstico e dirigir as opções de tratamento direto. Isso tem sido mais completamente estudado em casos de cânceres de cólon, em que uma escala foi atribuída aos tumores com base no número de células T de memória CD45RO e CTLs $CD8^+$ nas margens dos tumores extirpados. Foi constatado que um valor baixo na escala é preditivo de uma probabilidade mais alta de recidiva, metástases e morte em 5 anos, em comparação aos tumores com valor alto na escala, mesmo ao comparar tumores sem evidência de metástases para linfonodos ou de metástases distantes no momento da ressecção. Em alguns estudos, foi constatado que a escala imune tinha maior valor prognóstico do que a avaliação histológica do tumor. A pesquisa atual enfoca a expansão do uso das escalas imunes para uma gama mais ampla de tumores, bem como a ampliação das análises dos tumores extirpados, para incluir mais subpopulações de células imunes, empregando imuno-histoquímica e outros métodos. Padrões adicionais de expressão gênica imune/inflamatória de tumores individuais também estão sendo estudados e podem suplementar as escalas imunes.

Anticorpos

Hospedeiros portadores de tumor muitas vezes produzem anticorpos contra vários tipos de antígenos tumorais, porém o significado dos anticorpos na proteção contra cânceres é indeterminada. Os anticorpos podem matar células tumorais ao ativarem o complemento ou inibirem a citotoxicidade celular dependente de anticorpos, em que células *natural killer* (NK) ou macrófagos com receptores Fc medeiam o *killing*. No entanto, há pouca evidência de que as respostas imunes humorais contra tumores exercem efeito significativo na prevenção do desenvolvimento ou progressão tumoral. Há vários anticorpos antitumorais efetivos e aprovados que são usados para conferir imunidade passiva contra tumores (discutido adiante).

Células *Natural Killer*

As células NK são capazes de destruir muitos tipos de células tumorais e podem contribuir para a imunovigilância contra os cânceres. Vários estudos indicaram que pessoas com defeitos envolvendo o número ou a função de células NK causados por mutações genéticas, ou com atividade de célula NK abaixo do normal na ausência de defeitos genéticos comprovados, apresentam risco maior de desenvolver tumores, em comparação à população geral. Estudos realizados com camundongos também demonstraram que os defeitos genéticos na função da célula NK ou a depleção de células NK com anticorpos intensifica o crescimento tumoral e as metástases. Embora esses achados sustentem uma contribuição das células NK para a imunovigilância, as células geralmente representam apenas uma pequena fração dos infiltrados inflamatórios presentes na maioria dos tumores humanos e murinos, e seu papel relativo no ataque imune contra tumores estabelecidos não está claro.

As células tumorais se tornam suscetíveis ao* killing *pelas células NK quando regulam negativamente a expressão do MHC de classe I ou quando regulam positivamente a expressão de ligantes que ativam receptores da célula NK. As células NK expressam receptores inibidores que se ligam a moléculas de MHC de classe I expressas em células sadias (Capítulo 4). Conforme veremos adiante, alguns tumores perdem a expressão de moléculas de MHC de classe I como resultado da seleção contra células que expressam MHC de classe I, as quais são prontamente destruídas pelos CTLs. Essa perda de moléculas de MHC de classe I transforma os tumores em alvos particularmente bons para as células NK. Em adição, muitos tumores expressam ligantes do receptor ativador NKG2D em células NK, como MIC-A, MIC-B e ULB, sendo que a sinalização por NKG2D pode se sobrepor aos sinais de inibição oriundos da ligação de receptores do MHC de classe I. As células NK também podem ser ativadas para matar células tumorais cobertas com anticorpos antitumorais, por citotoxicidade celular dependente de anticorpo. A capacidade tumoricida das células NK é aumentada pelas citocinas, incluindo interleucina-2 (IL-2), IL-15 e IL-12, sendo que os efeitos antitumorais das citocinas *in vivo* são parcialmente atribuíveis à estimulação da atividade de células NK.

Macrófagos

Os macrófagos são capazes tanto de inibir como de promover o crescimento e disseminação dos cânceres, dependendo de seu estado de ativação. Os macrófagos M1 classicamente ativados, discutidos no Capítulo 10, podem matar muitas células tumorais. O modo como os

macrófagos são ativados pelos tumores é desconhecido. Um possível mecanismo é o reconhecimento de padrões moleculares associados ao dano, originados por células tumorais em processo de morte, pelos receptores imunes inatos dos macrófagos. Os macrófagos presentes em tumores também podem ser ativados para matar celular tumorais via IFN-γ produzido por CTLs ou células Th1 tumor-específicas. Isso pode ser o que leva à correlação entre um grande número de células Th1 presentes em alguns tumores com um prognóstico favorável. Os macrófagos M1 podem matar células tumorais via mecanismos que também são usados para destruir organismos infecciosos. Entre esses mecanismos, destaca-se a produção de óxido nítrico (NO, do inglês, *nitric oxide*), que comprovadamente mata tumores *in vitro* e em modelos murinos *in vivo*.

O Papel da Imunidade Inata e Adaptativa na Promoção do Crescimento Tumoral

Embora grande parte da ênfase em Imunologia de tumores tenha sido dada ao papel do sistema imune na erradicação de tumores, está claro que o sistema imune também pode contribuir para o crescimento de alguns tumores sólidos. De fato, a inflamação crônica é reconhecida há muito tempo como fator de risco de desenvolvimento tumoral em numerosos tecidos diferentes, especialmente naqueles afetados por doenças inflamatórias crônicas, como o esôfago de Barrett e a colite ulcerativa. Alguns cânceres associados a infecções também são considerados resultados indiretos dos efeitos carcinogênicos dos estados inflamatórios crônicos induzidos por organismos infecciosos. Entre estes estão o carcinoma gástrico e o linfoma no contexto da infecção crônica por *Helicobacter pylori*, além dos carcinomas hepatocelulares associados a infecções crônicas causadas pelos vírus das hepatites B e C. Embora os mecanismos pelos quais a inflamação crônica promove o desenvolvimento tumoral sejam pouco conhecidos, existem várias possibilidades sustentadas por dados obtidos com modelos experimentais de roedores.

Entre todas as células imunes, as células do sistema imune inato são consideradas os culpados mais diretos da promoção tumoral. Os macrófagos tumor-associados com fenótipo alternativamente ativado (M2), bem como outras células, são fontes de VEGF, um fator de crescimento promotor de angiogênese, e de metaloproteinases, enzimas modificadoras do tecido extracelular (Fig. 18.5). Sendo assim, a ativação crônica de algumas células imunes inatas é caracterizada por angiogênese e remodelamento tecidual, que favorecem o crescimento e a disseminação

tumorais. As células imunes inatas também podem contribuir para a transformação maligna das células gerando radicais livres que causam dano ao DNA e provocam mutações em genes supressores tumorais e oncogenes. Alguns dados sugerem que as células do sistema imune inato, incluindo mastócitos, neutrófilos e macrófagos, secretam fatores solúveis promotores da progressão do ciclo celular e sobrevivência de células tumorais. O fator de transcrição NF-κB, um mediador-chave das respostas imunes inatas, pode exercer um papel importante na progressão do câncer associada à inflamação.

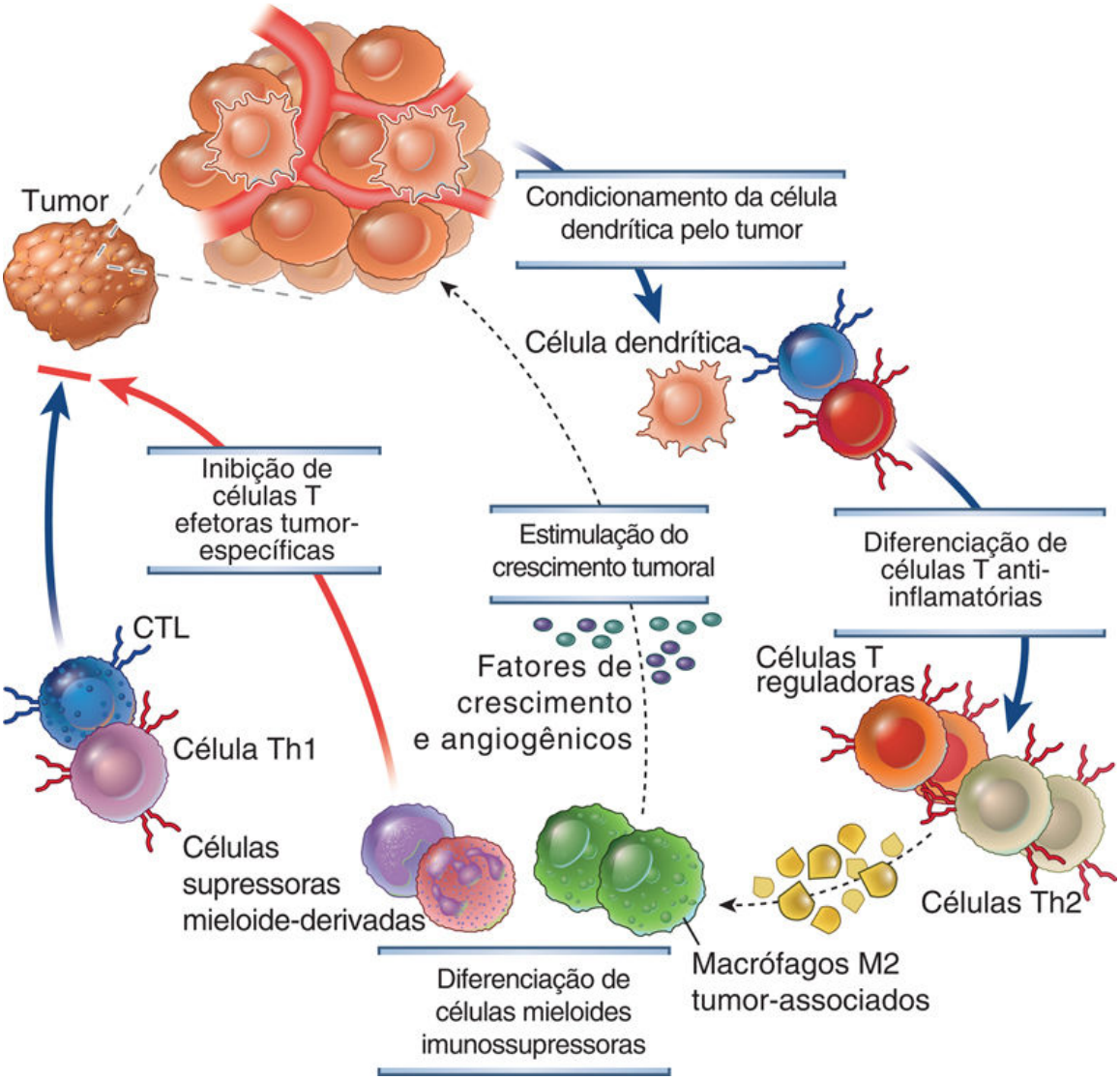


FIGURA 18.5 Promoção de crescimento tumoral pelo microambiente tumoral anti-inflamatório.
Embora a inflamação possa promover a transformação maligna das células e o desenvolvimento de cânceres, tumores estabelecidos costumam criar um microambiente que suprime a imunidade antitumoral e promove o crescimento da célula cancerosa. Os tumores alteram o fenótipo das DCs de modo a promover a diferenciação de células Th2 e Tregs anti-inflamatórias, as quais então promovem a diferenciação e o acúmulo de macrófagos M2 e células supressoras mieloide-derivadas. Essas células bloqueiam a ação de CTLs antitumorais e células Th1, além de fornecerem fatores de crescimento para as células tumorais e vasos sanguíneos tumorais.

Macrófagos alternativamente ativados, além de populações celulares não tão bem caracterizadas como as células supressoras mieloide-derivadas, também podem promover crescimento tumoral, indiretamente, inibindo a imunidade antitumoral efetiva. O papel destas células supressoras na imunoevasão é discutido adiante.

O sistema imune adaptativo pode intensificar o desenvolvimento tumoral de vários modos. Em resposta aos tumores, as células dendríticas podem ser condicionadas a dirigirem a diferenciação T $CD4^+$ para células Th2 anti-inflamatórias ou células T reguladoras (Tregs), ambas supressoras das respostas imunes que destroem os tumores, além de intensificar o desenvolvimento de macrófagos M2 e outros tipos celulares pró-tumorigênicos (Fig. 18.5). Também há evidência experimental de que os linfócitos B podem contribuir para a progressão tumoral por meio de sua secreção de fatores que regulam diretamente a proliferação de células tumorais, bem como com sua habilidade de ativar cronicamente as células imunes inatas presentes nos tumores iniciais.

Os efeitos de promoção tumoral do sistema imune são paradoxais, sendo atualmente temas de ativa investigação. Os efeitos de inflamação crônica teoricamente também são alvos de intervenção farmacológica dada a grande variedade de fármacos anti-inflamatórios efetivos já disponíveis. O desafio dos oncologistas é conseguir um equilíbrio benéfico em que as respostas imunes adaptativas antitumorais protetoras não sejam comprometidas, ao mesmo tempo em que as reações inflamatórias promotoras de tumores e potencialmente prejudiciais sejam controladas.

Evasão das Respostas Imunes pelos Tumores

Atualmente, os especialistas em biologia do câncer consideram a capacidade de evasão da imunidade do hospedeiro uma das principais características dos tumores. Como o câncer é uma das causas mais frequentes de morte em todo o mundo, é evidente que muitos tumores são bem-sucedidos na imunoevasão. Vários mecanismos de imunoevasão tumoral foram propostos e sustentados com evidências experimentais ou pelo êxito clínico alcançado por abordagens terapêuticas dirigidas aos mecanismos de evasão (Fig. 18.6). Um dos principais focos da Imunologia tumoral é compreender esses mecanismos de imunoevasão com a meta de que as intervenções destinadas à prevenção da imunoevasão venham aumentar a imunogenicidade dos tumores e maximizar as respostas do hospedeiro. A maioria dos mecanismos de evasão podem ser classificados como inibição ativa de respostas imunes antitumorais ou perda dos antígenos que dirigem essas respostas.

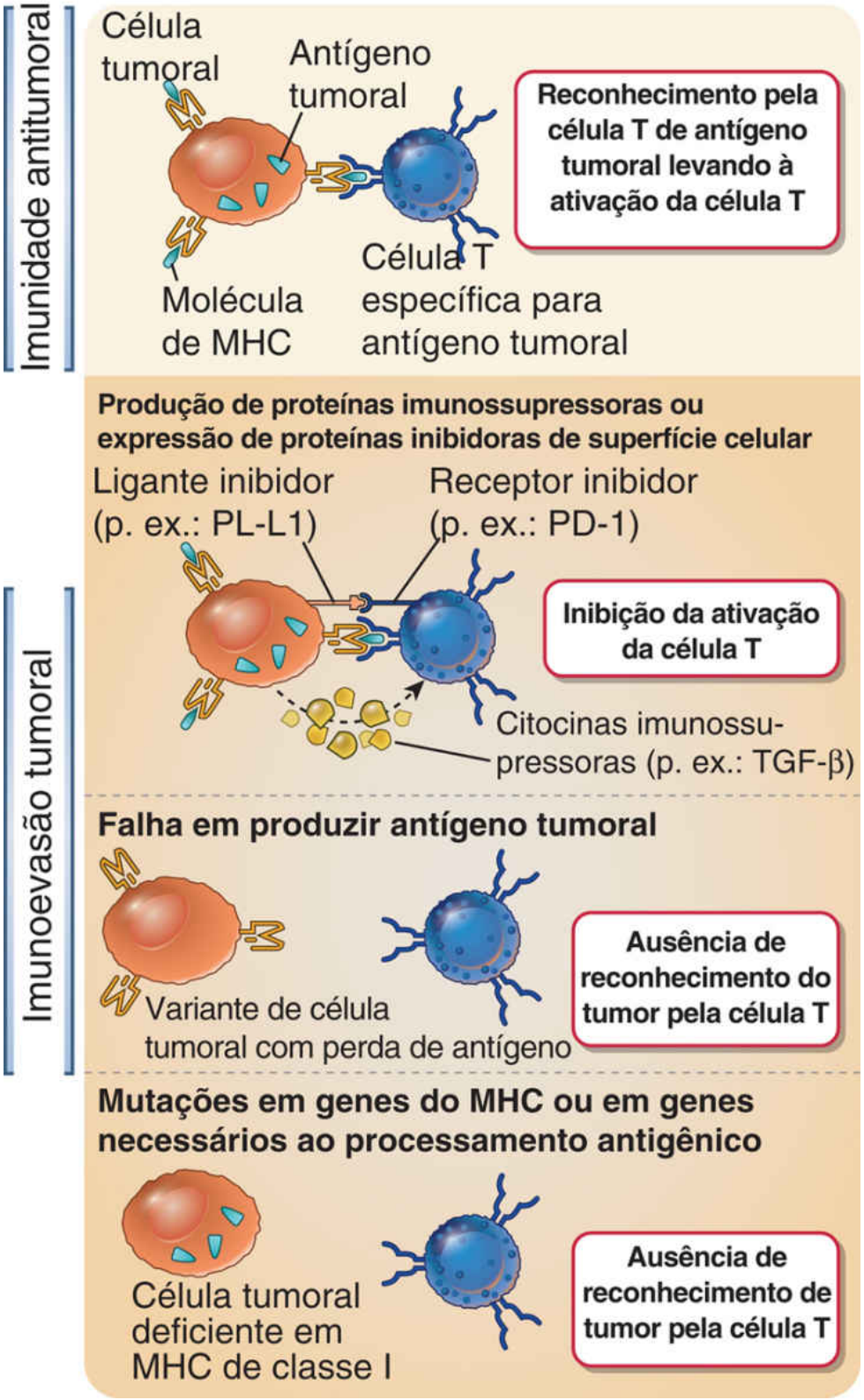


FIGURA 18.6 Mecanismos pelos quais os tumores escapam das defesas imunes.
A imunidade antitumoral se desenvolve quando as células T

reconhecem os antígenos tumorais e são ativadas. As células tumorais podem evadir as respostas imunes perdendo a expressão de antígenos ou moléculas do MHC, ou produzindo ligantes para os receptores de inibição da célula T e citocinas imunossupressoras.

Pontos de Controle Imunes: Inibição de Respostas Imunes

Os tumores evadem as respostas de células T antitumorais engajando moléculas inibidoras que normalmente atuam prevenindo a autoimunidade ou regulando as respostas imunes aos microrganismos. Há fortes evidências experimentais e clínicas de que as respostas de célula T a alguns tumores são inibidas pelo envolvimento de CTLA-4 (do inglês, *cytotoxic T lymphocyte-associated protein 4*) ou de PD-1 (do inglês, *programmed cell death protein-1*), duas das vias de inibição mais bem definidas em células T (Capítulo 15). Estudos empregando modelos tumorais murinos e cânceres humanos demonstraram que ambas, PD-1 e CTLA-4, frequentemente estão positivamente reguladas em células T infiltrantes tumorais, de maneira consistente com seu papel na inibição da função da célula T tumor-específica. De fato, as células T que infiltram tumores costumam exibir um fenótipo disfuncional (de exaustão) que foi descrito pela primeira vez no contexto de infecções virais crônicas (Capítulo 11). Esse estado disfuncional é caracterizado pelas funções efetoras comprometidas e pela expressão aumentada de CTLA-4, PD-1 e outras moléculas inibidoras. Uma possível razão para os tumores explorarem CTLA-4 para regular as respostas antitumorais é o fato de os antígenos tumorais serem apresentados por APCs na ausência de imunidade inata forte e, portanto, com baixos níveis de coestimuladores B7. Os níveis reduzidos podem ser suficientes para engajar o receptor CTLA-4 de alta afinidade. A via do PD-1 pode ser engajada em células T tumor-específicas, porque PD-L1 (PD-ligante 1), uma proteína da família B7 que é ligante de PD-1 (Capítulo 15), é expressa em muitos tumores humanos, às vezes devido à amplificação do gene *PDL1*. Nas APCs, a PD-L1 também pode estar envolvida na inibição da ativação de células T tumor-específicas. Conforme discutiremos depois, o bloqueio das vias CTLA-4 e PD-L1/PD-1 atualmente é bastante usado na clínica, para reverter o fenótipo disfuncional de células T tumor-específicas e intensificar sua habilidade de matar células tumorais. Além de PD-1 e CTLA-4, outros receptores de inibição expressos por células T tumor-

específicas, incluindo LAG-3, TIM-3 e TIGIT, também podem contribuir para a inibição de respostas imunes antitumorais.

Produtos secretados de células tumorais podem suprimir as respostas imunes antitumorais. Um exemplo de produto tumoral imunossupressor é o TGF-β, que é secretado por muitos tumores e inibe a proliferação e as funções efetoras de linfócitos e macrófagos (Capítulo 15).

As Tregs podem suprimir as respostas de célula T aos tumores. Evidências fornecidas por estudos realizados com tumores murinos e pacientes com câncer indicam que os números de Tregs estão aumentados em indivíduos portadores de tumores, e ainda que essas células podem ser encontradas em infiltrados celulares em determinados tumores. A depleção de Tregs em camundongos portadores de tumor intensifica a imunidade antitumoral e diminui o crescimento tumoral. Entretanto, o papel e o valor prognóstico das Tregs presentes em tumores humanos continua indefinido, podendo variar entre os tipos tumorais.

As células supressoras mieloide-derivadas (MDSCs, do inglês, myeloid-derived suppressor cells***) são precursores mieloides imaturos que se acumulam na medula óssea, tecidos linfoides, sangue e tumores de animais portadores de tumor e pacientes com câncer, e que suprimem as respostas imunes antitumorais mediadas por célula T e inatas.*** As MDSCs constituem uma coleção heterogênea de tipos celulares, incluindo precursores de células dendríticas, monócitos e neutrófilos. Além dos pacientes com tumores, as MDSCs também se acumulam nos tecidos de pacientes com doenças inflamatórias crônicas. Há relatos de que as MDSCs suprimem as respostas imunes inatas e adaptativas por meio de muitos mecanismos distintos, incluindo a secreção de citocinas imunossupressoras, como IL-10 e TGF-β, e de prostaglandinas, além de promoverem a diferenciação de Tregs. Embora a presença de MDSCs nos tumores esteja correlacionada com respostas imunes antitumorais comprometidas, há muitos hiatos em nosso conhecimento acerca da natureza dessas células, do modo como se desenvolvem e atuam, e de como podem ser visadas para fins terapêuticos. Conforme mencionado antes, os macrófagos M2 ativados por tumores também podem inibir a imunidade antitumoral e promover crescimento de tumores.

Perda da Expressão de Antígeno Tumoral

As respostas imunes a células tumorais participam das pressões seletivas que resultam na sobrevivência e crescimento de células tumorais variantes com imunogenicidade reduzida. Experimentos comparando tumores que

se desenvolvem em camundongos normais *versus* camundongos Rag-deficientes, que não apresentam imunidade adaptativa, mostraram que apenas no contexto de um sistema imune normal os tumores se tornam menos imunogênicos com o passar do tempo. E esse achado é consistente com a sobrevida seletiva de variantes celulares menos imunogênicas. O fenômeno foi chamado imunoedição (*immune editing*), implicando que a resposta imune conduz alterações nos tumores que os ajudam a evadir a resposta. Dada a alta taxa mitótica das células tumorais e sua instabilidade genética, é comum ocorrerem mutações ou deleções em gene codificadores de antígenos tumorais. Se esses antígenos não forem necessários para o crescimento tumoral ou para a manutenção do fenótipo transformado, as células tumorais antígeno-negativas contarão com uma vantagem de crescimento diante da resposta imune do hospedeiro. Estudos recentes confirmaram que isso ocorre em pacientes com câncer. Os antígenos tumor-específicos que dirigem as respostas de células T nos pacientes foram identificados por sequenciamento completo do exoma e pela identificação de peptídeos mutantes que se ligavam aos alelos do MHC dos pacientes. Nesses pacientes foi possível identificar subclones tumorais que já não traziam as mutações codificadoras de neoantígenos imunogênicos.

Além da perda de antígenos tumor-específicos, a expressão do MHC de classe I pode estar negativamente regulada em células tumorais, de modo a impedir seu reconhecimento pelos CTLs. Vários tumores mostram síntese diminuída de moléculas do MHC de classe I ou de proteínas requeridas para a expressão de MHC de classe I na superfície celular, incluindo β2-microglobulina, ou ainda de componentes da maquinaria de processamento antigênico, incluindo componentes transportadores de antígeno (TAP1 e TAP2) e subunidades do proteassomo. A perda da expressão do MHC de classe I provavelmente é uma adaptação que surge em resposta às pressões seletivas da imunidade do hospedeiro, e permite que as células tumorais evadam as respostas imunes mediadas por CTLs. Como já discutimos, tumores que perdem o MHC de classe I são mais propensos a serem reconhecidos por células NK. Entretanto, podem emergir mutações adicionais que comprometem a expressão na célula tumoral de ligantes para os receptores de ativação das células NK, promovendo o crescimento de subclones que também evadem o ataque da célula NK.

Imunoterapia para Tumores

Oncologistas e imunologistas trabalham há muitos anos em abordagens imunológicas para tratar pacientes com câncer, mas foi apenas recentemente que descobertas excitantes e amplamente aplicáveis foram usadas com sucesso no tratamento de pacientes (Fig. 18.7). Um dos principais motivos para o interesse em tratamentos imunológicos é o fato de a maioria das terapias estabelecidas para o câncer serem baseadas em fármacos (quimioterapia) ou radiação que matam células em divisão ou que bloqueiam a divisão celular, além de serem tratamentos que produzem efeitos prejudiciais nas células normais em proliferação. Como resultado, o tratamento de cânceres causa significativa morbidade e mortalidade. Teoricamente, as respostas imunes aos tumores podem ser altamente específicas para células tumorais e, assim, não lesar a maioria das células normais. Dessa forma, a imunoterapia tem o potencial de ser o tratamento mais tumor-específico que é possível idealizar. Avanços recentes na identificação de antígenos tumorais e métodos para modificar geneticamente as células T de modo a torná-las específicas para esses antígenos nos aproximaram ainda mais da imunoterapia altamente tumor-específica. As abordagens inovadoras utilizadas atualmente na clínica estimulam a resposta imune para controlar tumores, não são totalmente específicas para antígenos tumorais e produzem efeitos colaterais de dano aos tecidos normais. Mesmo assim, as abordagens propiciam grande benefício a muitos pacientes.

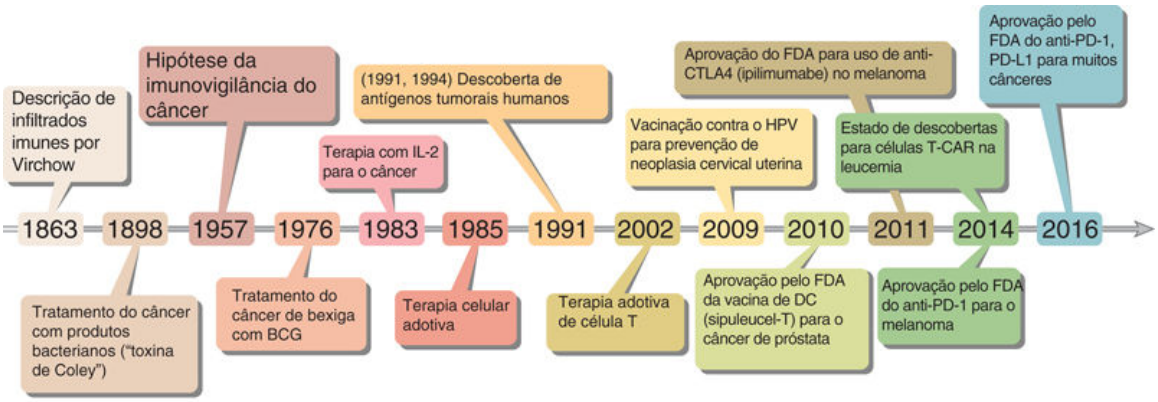


FIGURA 18.7 História da imunoterapia do câncer. Algumas descobertas importantes no campo da imunoterapia do câncer são resumidas. (Modificado de Lesterhuis WJ, Haanen JB, Punt CJ: *Cancer immunotherapy – revisited.* Nat Rev Drug Disc *10:591, 2011.) BCG,* Bacilo de Calmette-Guérin; *CAR*, receptor antigênico quimérico; *CTLA-4*, *cytotoxic T lymphocyte-associated protein 4*; *FDA*, Federal Drug Administration; *HPV*, papilomavírus humano; *PD-1*, *programmed cell death protein 1*; *PD-L1*, *PD-ligand 1*.

O segundo dentre os principais motivos para explorar as abordagens imunológicas no tratamento de tumores é que os fármacos citotóxicos têm fracassado em promover benefícios duradouros na maioria dos cânceres, que então acabam se espalhando pelo corpo, além de seu sítio de origem. Como a memória de longa duração é uma característica cardinal das respostas imunes adaptativas, e a imunidade é sistêmica, é possível que tão logo seja alcançada uma resposta imune adaptativa efetiva a um tumor, tal resposta seja sustentada por um longo período e seja efetiva no corpo inteiro.

Nesta seção, descreveremos esses e outros modos de imunoterapia tumoral.

Bloqueio de Pontos de Controle: Bloqueando Vias de Inibição das Células T

O bloqueio de moléculas inibidoras da célula T emergiu como um dos métodos mais promissores para intensificar efetivamente as respostas imunes dos pacientes aos seus tumores. Essa abordagem é baseada na ideia de que as células tumorais exploram diversas vias normais de imunorregulação ou tolerância para evadir a resposta imune do hospedeiro, conforme já discutido. Como esses mecanismos de inibição estabelecem pontos de controle (*checkpoints*) nas respostas imunes, a

abordagem de estimular respostas imunes com um fármaco que inibe os inibidores é chamada **bloqueio de pontos de controle** (Fig. 18.8). O primeiro fármaco dessa classe a ser desenvolvido é um anticorpo monoclonal específico para CTLA-4, o receptor inibidor em células T para B7 (Capítulo 15). A terapia com anti-CTLA-4 está aprovada para o melanoma avançado, sendo efetiva para retardar a progressão tumoral em muitos, mas não na maioria dos pacientes. Esse anticorpo pode funcionar não só bloqueando a ação de CTLA-4 como também (talvez) depletando Tregs que expressam altos níveis de CTLA-4. Conforme discutido, as respostas de células T contra tumores também podem ser inibidas pela via PD-L1/PD-1. O bloqueio de PD-1 ou seu ligante, PD-L1, com anticorpos parece ser ainda mais efetivo do que o anti-CTLA-4 na intensificação do *killing* tumoral pelas células T e contenção da progressão de cânceres avançados letais nos pacientes. Os anticorpos anti-PD-1 e anti-PD-L1 também causam efeitos adversos menos graves (descritos adiante) do que o anti-CTLA-4, e agora estão aprovados para uso no tratamento de vários tipos de cânceres metastáticos, incluindo melanoma, carcinomas de pulmão, carcinomas renais, carcinomas de bexiga, carcinomas de cólon e linfoma de Hodgkin. Os anticorpos atualmente são considerados a terapia de primeira linha para alguns tumores que já metastatizaram. Um bloqueio combinado de PD-1 e CTLA-4 parece ser mais efetivo contra certos cânceres do que o bloqueio isolado de um ou outro, e seu uso está aprovado para vários cânceres. Em cada paciente, a maioria das células T antitumorais responsivas a este tipo de terapia são células T $CD8^+$ que reconhecem neoantígenos apresentados por moléculas do MHC de classe I.

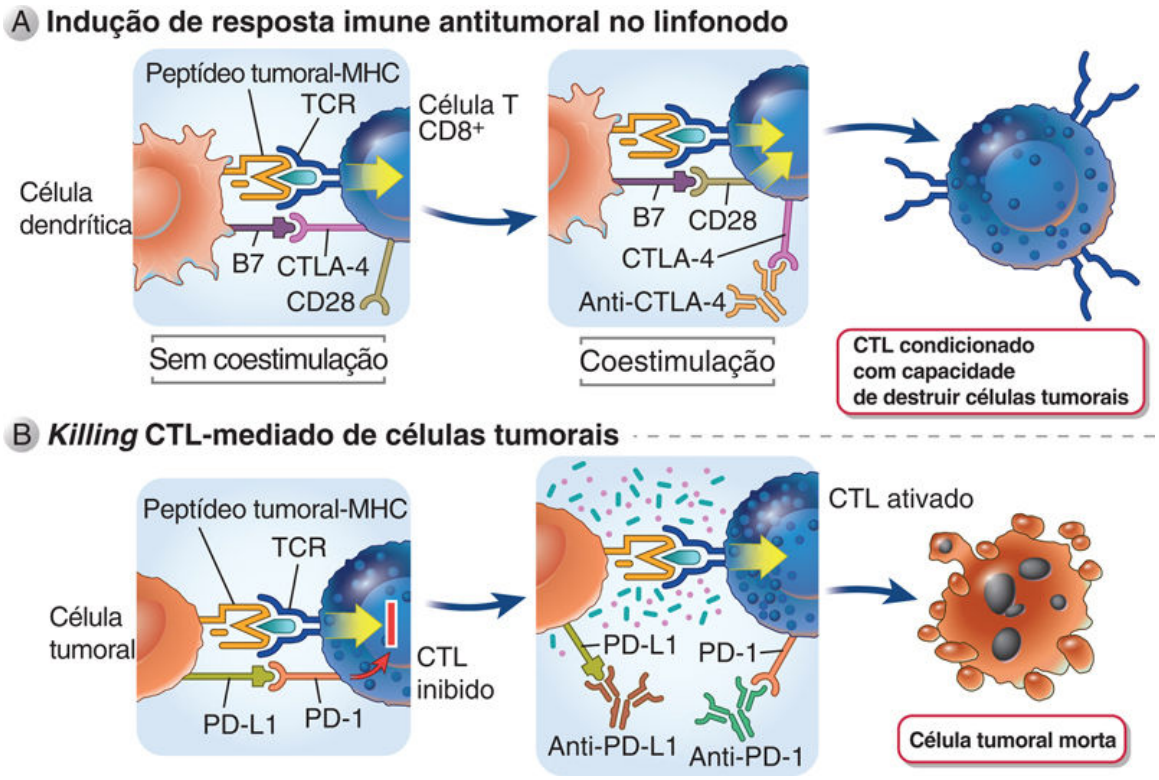


FIGURA 18.8 Bloqueio de pontos de controle.
Pacientes com tumor frequentemente montam respostas de célula T ineficientes contra seus tumores, devido à regulação positiva de receptores de inibição, como CTLA-4 e PD-1, nas células T tumor-específicas, bem como à expressão do ligante PD-L1 nas células tumorais. Anticorpos bloqueadores anti-CTLA4 **(A)** ou anti-PD-1 ou ainda anti-PD-L1 **(B)** são altamente efetivos no tratamento de vários tipos de tumores avançados, via liberação da inibição de células T tumor-específicas por essas moléculas. O anti-CTLA4 pode atuar bloqueando CTLA-4 nas células T efetoras (mostrado) ou em Tregs.

Os efeitos adversos comuns do tratamento de bloqueio de pontos de controle para cânceres são as reações autoimunes e inflamatórias, o que é previsível à luz dos papéis conhecidos de CTLA-4 e PD-1 na manutenção de autotolerância e na regulação das respostas de célula T. As reações adversas mais frequentes são a inflamação do cólon, pulmão, fígado e vários órgãos endócrinos, embora muitos outros órgãos e tecidos, incluindo músculos e coração, possam ser afetados. Em pacientes tratados com bloqueio de pontos de controle, as reações autoimunes costumam ser incomuns, no sentido de não serem comumente vistas em pacientes que desenvolvem autoimunidade espontânea. Por exemplo, o diabetes tipo 1 instável de aparecimento agudo, as lesões da glândula hipófise e a miocardite se desenvolvem nestes pacientes tratados, mas raramente

ocorrem em outro contexto. Em muitos, mas não todos os casos, essas reações podem ser controladas com medicações anti-inflamatórias, como corticosteroides, ou corrigidas com terapia de reposição hormonal.

Mais de 50% dos pacientes tratados com anti-CTLA-4 ou anti-PD-1 não respondem a esses fármacos ou desenvolvem resistência após uma resposta inicial. Existem várias razões possíveis para essas falhas terapêuticas.

- É improvável que a terapia de bloqueio de pontos de controle funcione em pacientes com tumores que têm relativamente poucas mutações somáticas codificando neoantígenos devido à existência de poucos clones de células T tumor-específicas que serão responsivos.
- A natureza do infiltrado celular em torno do tumor é preditiva da resposta ao bloqueio de pontos de controle. Em geral, células T efetoras abundantes, mesmo quando exibem fenótipo de células disfuncionais (ou exaustas), são preditivas de uma resposta favorável, enquanto os infiltrados celulares escassos ou a abundância de Tregs são preditivos de respostas precárias. Futuramente, os ensaios para células T que expressam receptores antigênicos (TCRs, do inglês, *T cell receptors*) específicos para neoantígenos poderão ser combinados à análise de abundância de neoantígeno, de modo a fornecer um valor preditivo maior.
- Muitos tumores não têm a vantagem da via de PD-1/PD-L1 como estratégia para evasão da imunidade antitumoral e, em vez disso, empregam outros mecanismos de imunoevasão. Consistente com esse conceito, níveis baixos de expressão de PD-L1 em alguns tipos tumorais, detectados por imuno-histoquímica, são preditivos de uma resposta precária à terapia de anti-PD-1.
- Tumores expressando PD-L1 inicialmente responsivos à terapia anti-PD-1 podem se tornar resistentes na presença da resposta imune forte. A resistência adquirida poderia se dar pelo crescimento seletivo de clones de células tumorais que expressam outras moléculas, que não PD-L1, capazes de inibir as respostas de células T. Alternativamente, podem ser selecionados clones de células tumorais que induzem as células T a expressarem outros receptores de pontos de controle além de PD-1.

Uma meta importante dos oncoimunologistas e dos oncologistas é identificar biomarcadores que possam predizer quais pacientes

responderão melhor a qual terapia de bloqueio de pontos de controle.

Para aumentar o percentual de pacientes responsivos ao bloqueio de pontos de controle, os oncologistas estão testando a eficácia do bloqueio concomitante de mais de um receptor de inibição, para diminuir a probabilidade de os tumores escaparem da terapia. Já foi demonstrado que a combinação de anticorpos contra CTLA-4 e PD-1 é mais efetiva do que um ou outro anticorpo isolado. Entretanto, presumivelmente, a terapia combinada leva uma incidência maior de reações autoimunes. Outras abordagens incluem a combinação do bloqueio de pontos de controle com vacinas antitumorais (discutidas posteriormente), com inibidores de quinase que bloqueiam vias oncogênicas nos tumores, ou com um anticorpo agonista estimulador específico para um receptor de ativação presente em células T.

Vacinação com Antígenos Tumorais

A vacinação de indivíduos portadores de tumores com antígenos tumorais pode resultar em respostas imunes intensificadas contra o tumor. As primeiras tentativas de reforçar a imunidade antitumoral foram baseadas na imunoestimulação inespecífica. Mais recentemente, vacinas compostas por células tumorais mortas, antígenos tumorais recombinantes ou células dendríticas incubadas com antígenos tumorais foram testadas em modelos experimentais com animais e em estudos clínicos com pacientes de câncer.

A identificação de peptídeos reconhecidos por CTLs tumor-específicos e a clonagem de genes codificadores de antígenos tumor-específicos reconhecidos por CTLs forneceu numerosos antígenos candidatos à inclusão em vacinas antitumorais. Novas tecnologias de sequenciamento de DNA agora são amplamente usadas para determinar com rapidez todas as mutações nas sequências de DNA codificadoras de proteína (exomas) dos genomas da célula cancerosa. Os algoritmos preditivos de ligação ao MHC são aplicados a esses dados para identificar os peptídeos mutantes mais propensos a se ligarem aos alelos de MHC de cada paciente. Estes avanços técnicos hoje permitem a identificação precisa de neoantígenos tumor-específicos em tumores individuais, e isso tem estimulado esforços para o desenvolvimento de abordagens de vacinação personalizadas (Fig. 18.9).

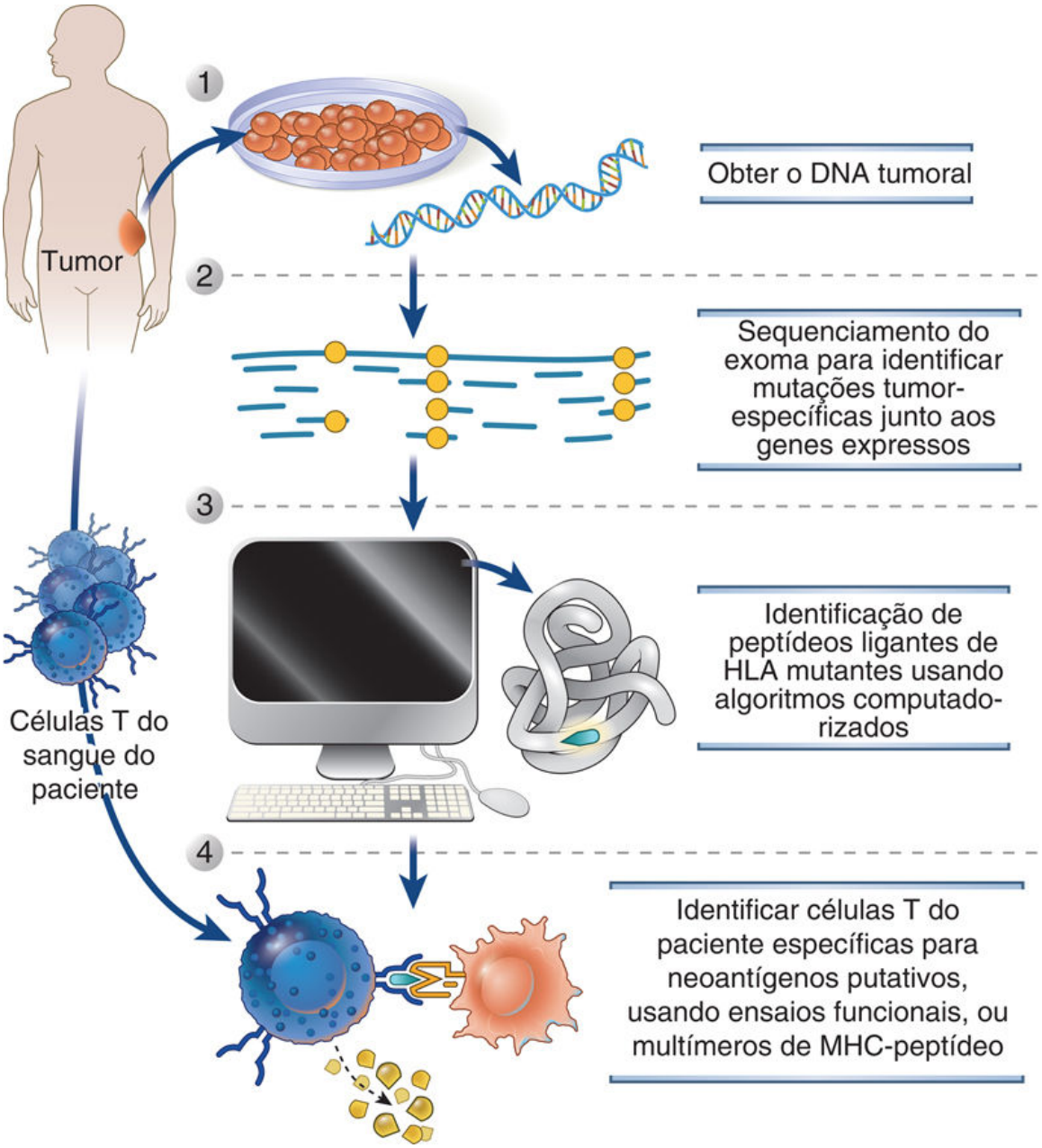


FIGURA 18.9 Detecção de neoantígenos tumorais que elicitam respostas de célula T.
O DNA tumoral pode ser purificado (1), e o sequenciamento do exoma pode detectar mutações ao acaso no genoma das células cancerosas (2). O algoritmo computadorizado pode então ser usado para determinar quais mutações ocorrem em sequências de aminoácidos codificadoras de peptídeos que se ligariam aos alelos do MHC no paciente (3). A validação dos peptídeos neoantigênicos putativos pode ser testada por meio de ensaios da resposta de célula T do paciente a estes peptídeos *in vitro* ou testando se os complexos MHC-peptídeo multiméricos podem se ligar às células T

(4). Essa abordagem está sendo usada para criar vacinas antitumorais personalizadas.

As estratégias de vacinação antitumoral empregam uma variedade de adjuvantes e métodos de aplicação.

- As moléculas pró-inflamatórias são usadas para intensificar os números de células dendríticas ativadas no sítio de vacinação. Esses adjuvantes incluem ligantes de receptor do tipo *Toll* (TLR, do inglês, *Toll-like receptor*), como DNA CpG e dsRNA miméticos, além de citocinas como o fator estimulador de colônias de granulócitos-macrófagos (GM-CSF, do inglês, *granulocyte-macrophage colony-stimulating factor*) e IL-12.
- Os antígenos tumorais são entregues na forma de vacinas de células dendríticas (Fig. 18.10). Nessa abordagem, as células dendríticas são purificadas de pacientes, incubadas com antígenos tumorais e, então, inoculadas de volta nos pacientes. Uma vacina à base de células atualmente está aprovada para o tratamento do câncer de próstata avançado. A vacina é composta de uma preparação de leucócitos do sangue periférico de um paciente enriquecida para células dendríticas, as quais são expostas a uma proteína de fusão recombinante consistindo em GM-CSF e o antígeno tumor-associado fosfatase ácida prostática. O GM-CSF promove a maturação das células dendríticas, as quais apresentam o antígeno tumoral e estimulam respostas de célula T antitumorais. Os desafios técnicos com as vacinas de células dendríticas são a necessidade de coletar as células de cada paciente e, então, de ter de expandi-las em cultura celular, o que é difícil de padronizar.
- As vacinas de DNA e os vetores virais codificadores de antígenos tumorais estão sendo testados em estudos clínicos. Essas vacinas podem ser a melhor forma de induzir respostas de CTL, porque os antígenos codificados são sintetizados no citosol de células como as células dendríticas e entram com eficiência na via do MHC de classe I da apresentação antigênica.

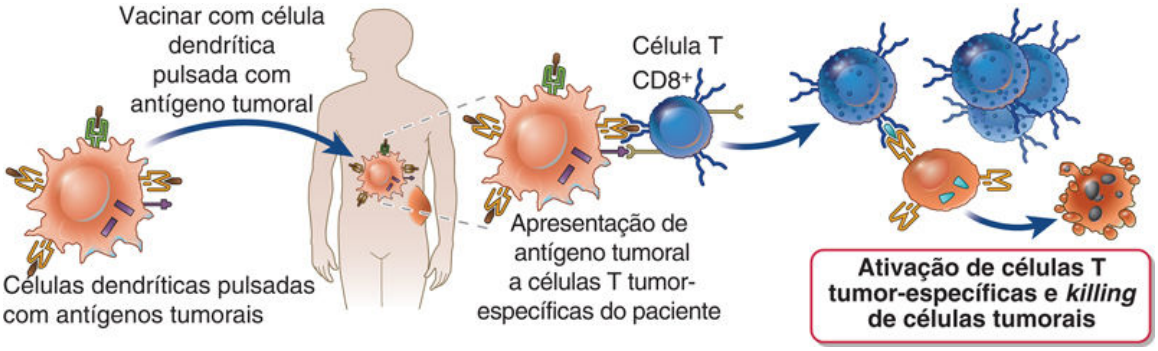


FIGURA 18.10 Vacinas de células dendríticas.
As células dendríticas, geradas *in vitro* com base em monócitos sanguíneos de um paciente com tumor, podem ser pulsadas com antígenos tumorais definidos e infundidas de volta no paciente, onde apresentarão o antígeno a células T específicas para este antígeno e reforçarão a resposta imune tumor-específica. Em outras abordagens, as células dendríticas são transfectadas com um gene codificador de antígeno tumoral e, às vezes, também com uma citocina promotora de respostas imunes. Essas células, então, são usadas como vacinas.

De modo geral, os resultados dos estudos realizados com numerosos tipos diferentes de vacinas tumorais têm sido inconsistentes e geralmente não muito bem-sucedidos. Isso provavelmente reflete a habilidade dos cânceres de evadir a imunidade do hospedeiro inibindo as respostas imunes. Em sua maioria, as vacinas tumorais são vacinas terapêuticas que precisam ser administradas depois de o hospedeiro ter desenvolvido o tumor (diferentemente das vacinas de prevenção de infecções). Para serem efetivas, as vacinas têm de sobrepujar a imunorregulação estabelecida pelos cânceres. O sucesso das terapias de bloqueio de pontos de controle, descritas anteriormente, têm criado a esperança de que a vacinação usada em combinação com terapias para bloquear a imunorregulação proporcionará benefícios adicionais.

O desenvolvimento de tumores induzidos por vírus pode ser diminuído com a vacinação preventiva usando antígenos virais ou vírus vivos atenuados. Como mencionado antes, vacinas anti-HPV recém-desenvolvidas foram efetivas em diminuir a incidência de lesões pré-malignas induzidas por HPV na cérvice. Essa abordagem tem sido extremamente bem- -sucedida em diminuir a incidência de cânceres hematológicos induzidos pelo vírus da leucemia felina em gatos, bem como em prevenir a doença de Marek, um linfoma induzido pelo herpesvírus, em frangos.

Terapia Celular Adotiva com Células T Antitumorais

A imunoterapia celular adotiva é a transferência de células imunes mantidas em cultura com reatividade antitumoral para um hospedeiro portador de tumor. As células imunes derivam do sangue de um paciente com câncer ou de um tumor sólido, e são então tratadas de várias formas, *in vitro*, para serem numericamente expandidas e assim intensificar sua atividade antitumoral, antes da reinfusão de volta no paciente.

Terapia de Célula T com Receptor Antigênico Quimérico

A terapia adotiva usando células T expressando receptores antigênicos quiméricos (CARs, do inglês,* chimeric antigen receptors*) foi comprovadamente bem-sucedida em algumas malignidades hematológicas, e essa abordagem está incluída nos estudos para outros tumores. Os CARs são receptores produzidos por engenharia genética, com sítios de ligação antígeno tumoral-específicos codificados por genes variáveis de imunoglobulina (Ig) recombinante e caudas citoplasmáticas contendo domínios de sinalização tanto do TCR como dos receptores de coestimulação (Fig. 18.11). A razão para usar uma Ig com um sítio de ligação específico para o antígeno tumoral como receptor de reconhecimento, mesmo tendo de funcionar em células T, é que isso evita o problema da restrição ao MHC dos TCRs, de modo que o mesmo construto de CAR pode ser usado em qualquer paciente. O sítio de ligação à Ig está fixo a uma cauda citoplasmática produzida por engenharia genética contendo domínios de sinalização que normalmente exerceriam papéis essenciais na ativação da célula T. Até hoje, algumas variações de construtos de sinalização foram usadas em CARs desenvolvidos em diferentes centros, mas todas contêm os motivos ITAM da cadeia ζ do TCR e os motivos sinalizadores citoplasmáticos de receptores de coestimulação, como CD28 e 4-1BB (um membro da família do receptor de TNF). A expressão desses domínios sinalizadores confere ao receptor Ig tumor-específico a habilidade de ativar células T.

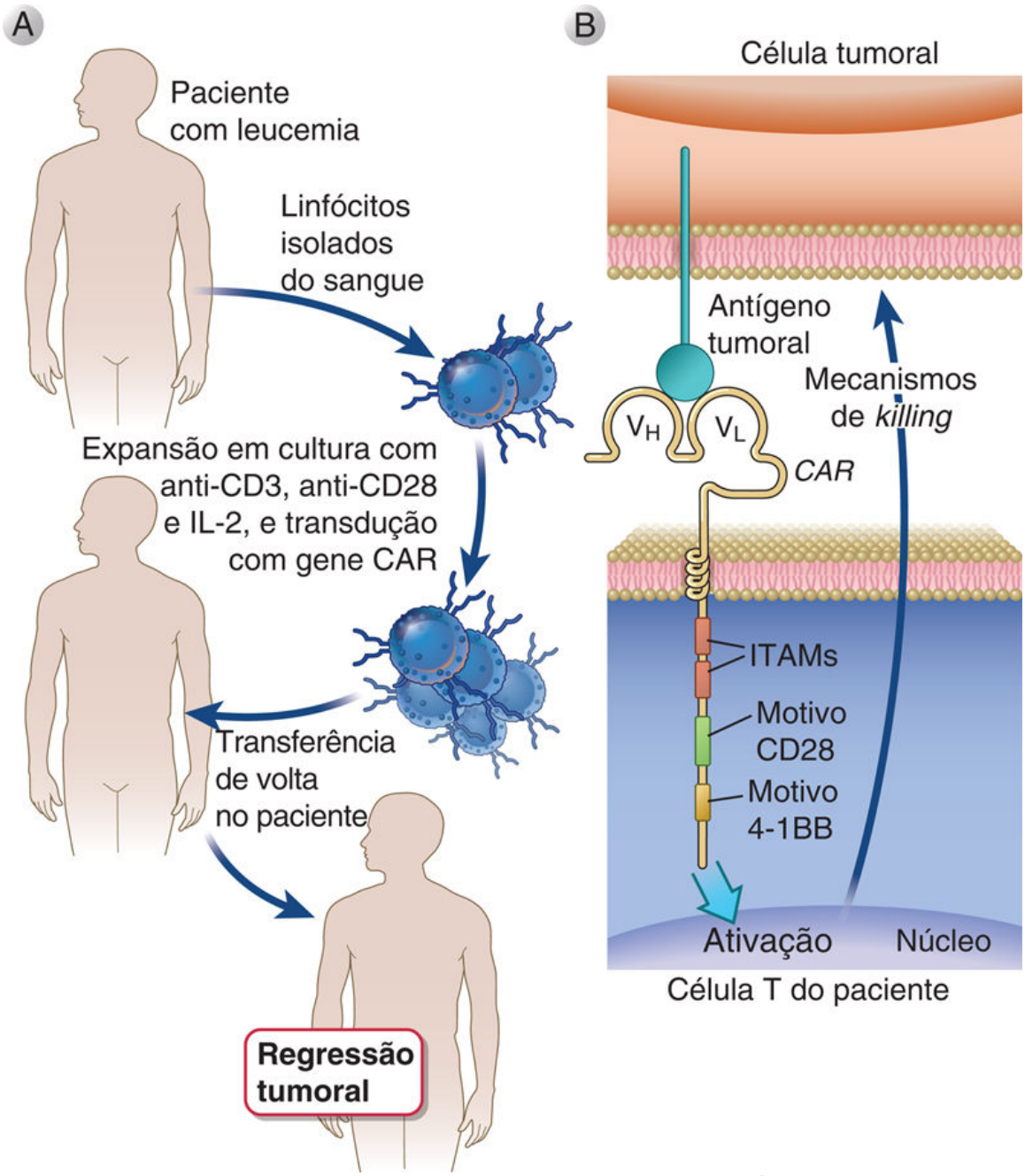


FIGURA 18.11 Terapia de célula T com receptor antigênico quimérico.
A, Células T isoladas do sangue de um paciente são expandidas em cultura com IL-2, anti-CD3 e anti-CD28, geneticamente modificadas para expressar receptores antigênicos quiméricos recombinantes (CARs), e transferidas de volta no paciente. **B,** CARs são compostos por um fragmento variável de cadeia única de Ig extracelular específico para um antígeno tumoral, e domínios sinalizadores citoplasmáticos que ativam células T, como os ITAMs de cadeia ζ do complexo TCR e os motivos no domínio

citoplasmático dos receptores coestimuladores, como CD28 e 4-1BB, que promovem ativação robusta da célula T. A terapia com células T-CAR tem sido bem-sucedida no tratamento de certas leucemias e linfomas.

Nos protocolos atuais, as células T do sangue periférico de um paciente são isoladas, estimuladas com anticorpos anti-CD3 e/ou anti-CD28 para expandir todas as células T, e transfectá-las com vetores lentivirais ou retrovirais codificadores de CAR. As células T com expressão de CAR (T-CAR) expandidas são então inoculadas de volta no paciente. As células T transferidas sofrem uma robusta proliferação adicional no paciente, em resposta ao reconhecimento do antígeno tumoral por CAR. As especificidades dos TCRs nestas células T (que ainda estão presentes) se tornam irrelevantes para a meta de destruir as células tumorais, uma vez que todas as células transfectadas podem ser ativadas pelo antígeno tumoral que se liga ao sítio de ligação antigênico codificado pelo gene de CAR. O *killing* tumoral é conseguido por ambos mecanismos, citotóxico direto e mediado por citocina. Pacientes com malignidades de célula B, incluindo leucemia linfocítica crônica e leucemia linfoblástica aguda, têm sido tratados de forma bastante efetiva com células T-CAR específicas para CD19, um marcador pan-célula B expresso também em células tumorais. As células B normais, assim como as células B tumorais, são destruídas, porém os pacientes podem ser suplementados com um *pool* de imunoglobulinas para compensar a falta de células B. Como os plasmócitos produtores de anticorpo de vida longa, encontrados na medula óssea adulta e nos tecidos de mucosa, não expressam CD19 e não são destruídos, continuam conferindo imunidade mediada por anticorpo nos pacientes adultos tratados com células T-CAR CD19-específicas. As células T-CAR de memória podem persistir nos pacientes tratados durante pelo menos vários meses, de modo que a vigilância contra a recorrência tumoral é mantida. A terapia com CAR está sendo usada em vários centros médicos ao redor do mundo para tratar malignidades de célula B refratárias a outros tratamentos, tendo sido criadas diversas instituições com capacidade de produzir em pouco tempo grandes quantidades de células T-CAR para cada paciente individual.

Ainda restam alguns obstáculos significativos que precisarão ser superados para a expansão bem-sucedida do uso da terapia de células T-CAR.

- Um problema é a reação adversa perigosa que ocorre com frequência logo após a transferência adotiva de células T em

pacientes com altas cargas tumorais. Nestes pacientes, tantas células T são ativadas ao mesmo tempo que uma intensa resposta inflamatória ocorre, chamada síndrome da liberação de citocinas, causada por citocinas secretadas pelas células T. Alguns pacientes que desenvolvem essa reação foram tratados com sucesso usando anticorpo antirreceptor de IL-6. Outros pacientes morreram de edema cerebral após a infusão de células T-CAR, por razões desconhecidas, e o risco de dano a longo prazo ao sistema nervoso central continua sendo preocupante, especialmente em crianças cujos cérebros ainda não estão completamente desenvolvidos.

- Se o tumor não for totalmente erradicado, as células sobreviventes podem perder o antígeno-alvo de CAR e o tumor pode recidivar. Esse é outro exemplo de evolução clonal dos cânceres. Uma forma de minimizar o problema é introduzir dois CARs, específicos para dois antígenos tumorais, nas células T e transferir as células aos pacientes. Estudos empregando essa abordagem estão em andamento.
- Em alguns pacientes, as células T-CAR transferidas parecem se tornar irresponsivas com o passar do tempo, e os tumores inicialmente controlados então recidivam. Nesses pacientes, as células que expressam CAR expressam também marcadores de disfunção (chamada exaustão; Capítulo 11), incluindo altos níveis de PD-1. Essa observação levou a estudos exploratórios usando métodos de edição de genoma para eliminar o gene *PD-1* nas células T-CAR, antes da transferência. Para evitar o risco de autoimunidade induzida por células T PD-1-negativas, uma ideia é eliminar também os TCRs endógenos das células T-CAR. Isso criará células T contendo apenas o receptor antigênico tumor-específico introduzido, com seus domínios de sinalização, e também eliminará um importante mecanismo de ponto de controle.

Até o momento, a terapia com células T-CAR somente alcançou êxito contra cânceres hematológicos, provavelmente porque as células T injetadas têm pronto acesso às células tumorais circulantes. Essa abordagem está em desenvolvimento para outras malignidades, como o mieloma múltiplo, tumores cerebrais e alguns carcinomas. Para tratar tumores sólidos com sucesso, será necessário encontrar métodos para fazer com que as células T injetadas entrem no sítio tecidual tumoral, mas isso continua inviável até o presente. Do mesmo modo, será necessário projetar

células T-CAR que sejam específicas para as células cancerosas e que não matem células normais. Uma abordagem consiste em identificar pares de antígenos que comumente são expressos juntos apenas nas células tumorais, e usar células T-CAR biespecíficas cuja ativação necessite do reconhecimento de ambos os antígenos.

Terapia Celular Adotiva com Células T Tumor-específicas

Células T específicas para antígenos tumorais podem ser coletadas do tecido tumoral ou do sangue de um paciente, expandidas e ativadas* in vitro*, e então reinoculadas em pacientes com câncer. Essa abordagem geral tem sido usada em vários estudos por muitos anos, contudo, apresentou sucesso limitado provavelmente porque as células isoladas de pacientes contêm poucas células T tumor-específicas potentes. Com o advento das tecnologias discutidas anteriormente para a identificação de neoantígenos que dirigem respostas de célula T tumor-específicas em pacientes individuais, há um interesse renovado pela terapia adotiva com células T específicas para esses antígenos. A abordagem envolverá a coleta de células T do sangue ou de tumores de pacientes, estimulação das células com o antígeno *in vitro* para aumentar os números e a atividade funcional das células específicas para os neoantígenos tumorais, e finalmente a transferência das células T ativadas de volta no paciente. Alguns êxitos já foram conseguidos em pequenos estudos que empregaram a abordagem em pacientes com melanoma.

Imunoterapia Passiva com Anticorpos

A terapia passiva com anticorpos envolve a transferência de anticorpos tumor-específicos em pacientes, sendo uma abordagem rápida e, teoricamente, muito específica (que com frequência é chamada, de forma até entusiástica, "balas mágicas"), mas que não leva à imunidade duradoura. Paul Ehrlich escreveu sobre o potencial de tratar tumores com anticorpos há mais de um século. Alguns anticorpos monoclonais têm estado em uso no tratamento de cânceres há mais de 20 anos, sendo que muitos outros atualmente estão aprovados para uso ou estão em fase avançada de desenvolvimento (Tabela 18.1). Embora os reagentes de bloqueio de pontos de controle discutidos anteriormente sejam anticorpos monoclonais, a maioria não se liga às células tumorais, e seu modo de ação, que consiste em bloquear os inibidores da ativação da célula T, é

fundamentalmente diferente dos mecanismos dos anticorpos aqui discutidos.

- Alguns anticorpos antitumorais se ligam a moléculas da superfície celular presentes nas células tumorais e engajam mecanismos efetores do hospedeiro que destroem as células tumorais. Esses mecanismos incluem a citotoxicidade mediada pela célula NK, a lise mediada pelo complemento, e a fagocitose mediada por complemento ou pelo receptor Fc realizada pelos macrófagos. Vários anticorpos antitumorais atualmente aprovados para o tratamento de certos cânceres agem desse modo. Por exemplo, conforme mencionado antes, o anti-CD20 é usado para tratar linfomas de célula B e atua depletando todas as células que expressam CD20, incluindo as células B e as células de linfoma derivado de célula B, principalmente via citotoxicidade celular dependente de anticorpo e, talvez, também via ativação do complemento.
- Outros anticorpos monoclonais usados na terapia do câncer se ligam a receptores de fatores de crescimento presentes nas células cancerosas e interferem na sinalização requerida para o crescimento e sobrevida tumoral. O anti-Her2/Neu é um anticorpo monoclonal aprovado usado para tratar cânceres de mama que superexpressam Her2/Neu, uma molécula de sinalização do fator de crescimento de superfície celular. Um anticorpo que se liga e bloqueia a função do receptor do fator de crescimento epidérmico (EGFR, do inglês, *epidermal growth factor receptor*) está aprovado para uso no tratamento de cânceres colorretais metastáticos e cânceres de cabeça e pescoço. Outro anticorpo em uso clínico para vários cânceres bloqueia não uma molécula da célula tumoral mas um fator de crescimento, o VEGF, que estimula a angiogênese requerida para manutenção do crescimento tumoral.
- Os engajadores de célula T bi-específicas (BiTEs, do inglês, *bispecific T cell engagers*) facilitam o direcionamento das células T do hospedeiro de qualquer especificidade para o ataque às células tumorais. Esses reagentes são anticorpos recombinantes obtidos por engenharia genética, de modo a expressarem dois sítios de ligação antigênica distintos, um específico para um antígeno tumoral, e outro específico para uma molécula de superfície da célula T, em geral CD3. Em muitos desses anticorpos, cada sítio de ligação antigênica é composto por um fragmento variável de

cadeia única contendo os domínios variáveis das cadeias pesada e leve de Ig, de modo similar aos CARs descritos anteriormente. O provável mecanismo de ação dos BiTEs, com base em estudos *in vitro*, é a formação de sinapses imunes entre as células tumorais e as células T, aliada à ativação das células T pela ligação cruzada de CD3. Um BiTE CD19-específico está aprovado para uso no tratamento da leucemia linfocítica aguda. Foram desenvolvidos BiTEs específicos para muitos outros antígenos tumorais, incluindo CD20, EpCAM, Her2/Neu, EGFR, CEA, receptor de folato e CD33, os quais estão em vários estágios de estudos pré-clínicos e clínicos.

- As imunotoxinas, ou anticorpos monoclonais conjugados, são anticorpos específicos para antígenos tumorais ligados a um fármaco quimioterápico ou a um radioisótopo. A lógica para o uso desses agentes é a possibilidade de administrar grandes concentrações locais de fármacos citotóxicos ou de isótopos às células tumorais, devido à especificidade do anticorpo. Anticorpos conjugados a fármacos aprovados e específicos para Her2/Neu e CD30 são aprovados para uso no tratamento do câncer de mama e do linfoma de Hodgkin, respectivamente. Um número muito maior de anticorpos conjugados foram desenvolvidos, mas falharam em estudos clínicos por apresentarem uma significativa toxicidade sistêmica decorrente do acúmulo inespecífico do componente toxico em vários tecidos.

Tabela 18.1

Anticorpos Monoclonais Antitumorais Aprovados para Uso Clínico

Especificidade do Anticorpo	Nome do Fármaco	Forma de Anticorpo Usada	Uso Clínico
HER2/Neu (EGFR)	Trastuzumabe	Humanizado	Câncer de mama
CD19	Blinatumomabe	Anticorpo CD19/CD3-biespecífico	Leucemia linfoblástica aguda
CD20	Rituximabe Ofatumumabe	Quimérico Humano	Leucemias e linfomas de célula B Leucemia linfocítica crônica
CD20	90Y-Ibritumomabe tiuxetana	Conjugado a radioisótopo, murino	Linfoma não Hodgkin de célula B transformada ou de baixo grau
CD30	Brentuximabe vedotina	Conjugado com fármaco, quimérico	Linfoma de Hodgkin ou de célula grande anaplásica sistêmico
CD33	Gemtuzumabe ozogamicina	Humanizado	Leucemia mieloide aguda
CD52	Alemtuzumabe	Humanizado	CLL, CTCL e linfoma de célula T
CTLA-4	Ipilimumabe	Humano	Melanoma metastático
PD-1/PD-L1	Nivolumabe Pembrolizumabe	Humanizado Humanizado	Melanoma metastático; câncer de pulmão
EGFR	Cetuximabe Panitumumabe Nimotuzumabe	Quimérico Humano Humanizado	Câncer colorretal, de mama e de pulmão; outros tumores Câncer colorretal Câncer de cabeça e pescoço
VEGFA	Bevacizumabe	Humanizado	Câncer colorretal e de pulmão
CD254 (RANK ligante)	Denosumabe	Humano	Metástases ósseas de tumor sólido

CLL, Leucemia linfocítica crônica; *CTCL*, linfoma de célula T cutâneo; *EGFR*, epidermal growth factor receptor; *VEGEFA*, vascular endotelial growth factor A.

Outras Abordagens para Estimular a Imunidade Antitumoral

Diversas abordagens adicionais têm sido usadas para intensificar a imunidade do hospedeiro contra tumores, alcançando graus variáveis de

sucesso.

Terapia de Citocinas

Os pacientes de câncer podem ser tratados com citocinas que estimulam a proliferação e diferenciação de linfócitos T e células NK. Essas citocinas podem intensificar a ativação de células dendríticas e células T tumor-específicas, particularmente de CTLs $CD8^+$. Muitas citocinas também têm o potencial de induzir respostas inflamatórias inespecíficas que, por si sós, podem apresentar atividade antitumoral. A maior experiência clínica é a administração de uma dose alta de IL-2 por via intravenosa, que tem sido efetiva na indução de uma regressão tumoral mensurável em cerca de 10% dos pacientes com melanoma avançado e carcinoma de células renais, sendo atualmente uma terapia aprovada para esses cânceres. O uso de IL-2 em altas doses, entretanto, é limitado por estimular a produção de quantidades tóxicas de citocinas pró-inflamatórias, como TNF e IFN-γ, que atuam em células endoteliais vasculares e outras células levando a uma grave síndrome de extravasamento vascular.

O IFN-α é aprovado para uso no tratamento de vários cânceres, incluindo melanoma maligno, certos linfomas e leucemias, e o sarcoma de Kaposi associado à Aids. Os mecanismos dos efeitos antineoplásicos do IFN-α provavelmente incluem a inibição da proliferação celular tumoral, atividade citotóxica aumentada de células NK, e expressão aumentada do MHC de classe I nas células tumorais, tornando-as mais suscetíveis ao *killing* por CTLs.

Outras citocinas, como TNF e IFN-γ, são agentes antitumorais efetivos em modelos animais, porém seu uso nos pacientes é limitado por seus efeitos colaterais tóxicos. Os fatores de crescimento hematopoiéticos, incluindo GM-CSF e G-CSF, são usados em protocolos de tratamento de câncer para encurtar os períodos de neutropenia e trombocitopenia após a quimioterapia ou o transplante de medula óssea autólogo.

Estímulos Inflamatórios Inespecíficos

As respostas imunes aos tumores podem ser estimuladas pela administração local de substâncias inflamatórias ou pelo tratamento sistêmico com agentes que atuam como ativadores policlonais de linfócitos. Um dos exemplos mais antigos de imunoterapia antitumoral era praticado por volta do século XIX, pelo médico William Coley, que tratava seus pacientes com câncer usando misturas de bactérias mortas, conhecidas como “toxina de Coley”. Essa abordagem pode ter sido

intermitentemente bem-sucedida devido à indução de respostas imunes fortes, causando uma inflamação aguda que destruía as células tumorais. A imunoestimulação inespecífica dos pacientes com tumores por meio da injeção de substâncias inflamatórias, como o bacilo de Calmette-Guérrin (BCG) morto, em sítios de crescimento tumoral tem sido usada há muitos anos. As micobactérias BCG ativam macrófagos e, assim, promovem o *killing* das células tumorais pelos macrófagos. Além disso, as bactérias atuam como adjuvantes e podem estimular respostas de célula T aos antígenos tumorais. A BCG intravesicular atualmente é usada para tratar o câncer de bexiga. As terapias com citocinas, já discutidas, representam outro método de intensificar as respostas imunes de um modo inespecífico.

Efeito Enxerto-*Versus*-Leucemia

Em pacientes com leucemia, a administração de células T e de células NK juntas com células-tronco hematopoiéticas oriundas de um doador alogênico pode contribuir para a erradicação do tumor. O efeito de enxerto *versus* leucemia mediado pela célula T é dirigido para as moléculas presentes nas células hematopoiéticas do receptor, incluindo as células leucêmicas, as quais são reconhecidas como estranhas pelas células T administradas. As células NK do doador respondem às células tumorais porque os tumores podem expressar níveis baixos de moléculas do MHC de classe I ou expressam alelos do MHC de classe I que não são reconhecidos pelas células NK do doador. Lembre que o reconhecimento do MHC de classe I próprio normalmente inibe a ativação das células NK (Capítulo 4). O desafio no uso desse tratamento para melhorar o resultado clínico é minimizar o desenvolvimento da perigosa doença do enxerto *versus* hospedeiro que pode ser mediada pelas mesmas células T do doador (Capítulo 17).

Os notáveis avanços recentes em Imunologia do câncer prometem mudar drasticamente o cuidado prestado aos pacientes com estas temidas doenças. O êxito do bloqueio de pontos de controle para muitos tumores sólidos, bem como da infusão de células T-CAR para malignidades hematológicas revitalizou o campo da Imunologia tumoral. Apesar das limitações e problemas que ainda restam, o enorme esforço que está sendo investido neste campo torna provável a ocorrência de avanços adicionais em um futuro muito próximo.

Resumo

- Os tumores expressam antígenos que são reconhecidos pelo sistema imune, porém a maioria dos tumores suprimem as respostas imunes ou são fracamente imunogênicos, enquanto as respostas imunes frequentemente falham em prevenir o crescimento tumoral. Mesmo assim, o sistema imune pode ser estimulado para destruir efetivamente os tumores.
- Os antígenos tumorais reconhecidos por CTLs são os principais indutores e alvos da imunidade antitumoral. Os neoantígenos tumor-específicos gerados por mutações ao acaso de proteínas celulares, as quais podem ser processadas em peptídeos mutantes de ligação ao MHC, são os mais importantes. Entretanto, outros antígenos tumorais que comprovadamente estimulam as células T do hospedeiro incluem produtos de oncogenes mutantes, proteínas normais com expressão desregulada ou aumentada em tumores, e antígenos de vírus oncogênicos.
- Anticorpos específicos para antígenos celulares tumorais são usados para fins diagnósticos, sendo que os antígenos são potenciais alvos para a terapia com anticorpos. Esses antígenos incluem antígenos oncofetais, normalmente expressos durante a vida fetal e cuja expressão está desregulada em alguns tumores; glicolipídeos e glicoproteínas de superfície alteradas; e moléculas normalmente expressas nas células de origem dos tumores e que são, portanto, antígenos de diferenciação para tipos celulares particulares.
- As respostas imunes capazes de destruir células tumorais são mediadas por CTLs, células NK e macrófagos ativados. Entre os mecanismos imunoefetores, o papel dos CTLs na proteção de indivíduos contra tumores é o mais bem definido.
- Os tumores evadem as respostas imunes através de vários mecanismos, incluindo a regulação negativa da expressão de moléculas do MHC; crescimento seletivo de células que não expressam antígenos tumorais; produção de substâncias imunossupressoras solúveis; engajamento de receptores de inibição em linfócitos por seus ligantes expressos em células tumorais; e indução de células T reguladoras. Os macrófagos associados ao tumor e as células supressoras mieloide-derivadas,

encontradas na maioria dos tumores sólidos, podem suprimir a imunidade antitumoral.

- A imunoterapia para tumores é projetada para intensificar as respostas imunes ativas contra estes tumores, ou para administrar efetores imunes tumor-específicos em pacientes. A imunidade antitumoral pode ser intensificada com o bloqueio dos mecanismos de imunorregulação. As respostas imunes também podem ser ativamente estimuladas por vacinação com células ou antígenos do tumor, bem como pela administração sistêmica de citocinas que estimulam respostas imunes.
- Dois avanços recentes em imunoterapia para tumores são o bloqueio de pontos de controle e a terapia com células T-CAR. No bloqueio de pontos de controle, anticorpos contra receptores de inibição presentes em células T, ou seus ligantes, são administrados para remoção dos freios na ativação de linfócitos e, desta forma, promover imunidade antitumoral específica para os antígenos tumorais pelas células T do hospedeiro previamente inibidas. Na terapia com células T-CAR, as células T de um paciente com câncer são submetidas à engenharia genética *ex vivo*, para expressarem um receptor antigênico híbrido que reconhece um antígeno tumoral por meio de domínios V de anticorpo e sinaliza via TCR citoplasmático e motivos de receptor coestimulador, potencialmente ativando as células T. As células T-CAR são transferidas de volta ao paciente com tumor, onde se tornam ativadas pelos antígenos tumorais e matam as células do tumor.
- Anticorpos antitumor são amplamente usados em imunoterapia de tumores. Os anticorpos se ligam a moléculas presentes na superfície das células tumorais e engajam mecanismos efetores para destruir os tumores, entre os quais complemento, células NK e fagócitos, ou os anticorpos se ligam a receptores de fatores de crescimento, o que bloqueia a sinalização necessária à manutenção do crescimento celular tumoral.

Referências Sugeridas

Respostas Imunes aos Tumores

Boon T, Coulie PG, Van den Eynde BJ, van der Bruggen P. Human T cell responses against melanoma. *Annu Rev Immunol*. 2006;24:175–208.

Burnet FM. The concept of immunological surveillance. *Prog Exp Tumor Res*. 1970;13:1–27.

Galon J, Angell HK, Bedognetti D, Marincola FM. The continuum of cancer immunosurveillance: prognostic, predictive, and mechanistic signatures. *Immunity*. 2013;39:11–26.

Grivennikov SI, Greten FR, Karin M. Immunity, inflammation, and cancer. *Cell*. 2010;140:883–899.

Morvan MG, Lanier LL. NK cells and cancer: you can teach innate cells new tricks. *Nat Rev Cancer*. 2016;16:7–19.

Palucka AK, Coussens LM. The basis of oncoimmunology. *Cell*. 2016;164:1233–1247.

Ruffell B, Coussens LM. Macrophages and therapeutic resistance in cancer. *Cancer Cell*. 2015;27:462–472.

Savage PA, Leventhal DS, Malchow S. Shaping the repertoire of tumor-infiltrating effector and regulatory T cells. *Immunol Rev*. 2014;259:245–258.

Schreiber RD, Old LJ, Smyth MJ. Cancer immunoediting: integrating immunity's roles in cancer suppression and promotion. *Science*. 2011;331:1565–1570.

Ward JP, Gubin MM, Schreiber RD. The role of neoantigens in naturally occurring and therapeutically induced immune responses to cancer. *Adv Immunol*. 2016;130:25–74.

Imunoterapia de Tumores

Gubin MM, Artyomov MN, Mardis ER, Schreiber RD. Tumor neoantigens: building a framework for personalized cancer immunotherapy. *J Clin Invest*. 2015;125:3413–3421.

Khalil DN, Smith EL, Brentjens RJ, Wolchok JD. The future of cancer treatment: immunomodulation, CARs and combination immunotherapy. *Nat Rev Clin Oncol*. 2016;13:273–290.

Maus MV, June CH. Making Better Chimeric Antigen Receptors for Adoptive T-cell Therapy. *Clin Cancer Res*. 2016;22:1875–1884.

Melief CJ. Cancer immunotherapy by dendritic cells. *Immunity*. 2008;29:372–383.

Melief CJ, van Hall T, Arens R, et al. Therapeutic cancer vaccines. *J Clin Invest*. 2015;125:3401–3412.

Ribas A. Releasing the Brakes on Cancer Immunotherapy. *NEJM*. 2015;373:1490–1492.

Schumacher TN, Schreiber RD. Neoantigens in cancer immunotherapy. *Science*. 2015;348:69–74.

Sharma P, Allison JP. The future of immune checkpoint therapy. *Science*. 2015;348:56–61.

Ward JP, Gubin MM, Schreiber RD. The Role of Neoantigens in Naturally Occurring and Therapeutically Induced Immune Responses to Cancer. *Adv Immunol*. 2016;130:25–74.

Weiner LM, Surana R, Wang S. Monoclonal antibodies: versatile platforms for cancer immunotherapy. *Nat Rev Immunol*. 2010;10:317–327.

CAPÍTULO 19

Doenças de Hipersensibilidade

CAUSAS DAS DOENÇAS DE HIPERSENSIBILIDADE

MECANISMOS E CLASSIFICAÇÃO DAS REAÇÕES DE HIPERSENSIBILIDADE

DOENÇAS CAUSADAS POR ANTICORPOS
- Doenças Causadas por Anticorpos contra Células Fixas e Antígenos Teciduais
- Doenças Mediadas por Imunocomplexos

DOENÇAS CAUSADAS POR LINFÓCITOS T
- Doenças Causadas pela Inflamação Mediada por Citocinas
- Doenças Causadas por Linfócitos T Citotóxicos

ABORDAGENS TERAPÊUTICAS PARA AS DOENÇAS IMUNOLÓGICAS

DOENÇAS IMUNOLÓGICAS SELECIONADAS: PATOGÊNESE E ESTRATÉGIAS TERAPÊUTICAS
- Lúpus Eritematoso Sistêmico (LES): O Protótipo de Doença Mediada por Imunocomplexo
- Artrite Reumatoide
- Esclerose Múltipla
- Diabetes Tipo 1
- Enteropatia Inflamatória

RESUMO

A imunidade adaptativa tem a importante função de defesa do hospedeiro contra infecções microbianas, mas as respostas imunes também são capazes de causar lesão tecidual e doença. Os distúrbios causados pelas respostas imunes são chamados **doenças de hipersensibilidade**. Esse termo surgiu da definição clínica de imunidade como uma sensibilidade, baseada na observação de que um indivíduo exposto a um antígeno exibe uma reação detectável (ou torna-se sensível) a encontros subsequentes com esse antígeno. Normalmente, as respostas imunes erradicam os patógenos infecciosos sem provocar graves lesões aos tecidos do hospedeiro. No entanto, essas respostas são algumas vezes controladas de maneira inadequada, inapropriadamente direcionadas aos tecidos do hospedeiro ou desencadeadas por microrganismos comensais ou antígenos ambientais que geralmente são inócuos. Nessas situações, a resposta imune, normalmente benéfica, torna-se a causa da doença.

Neste capítulo, descreveremos a patogênese de diferentes tipos de reações de hipersensibilidade, com ênfase nos mecanismos efetores que causam lesão tecidual. Concluiremos com uma breve consideração sobre o tratamento de doenças imunológicas e exemplos de doenças que ilustram princípios importantes.

Causas das Doenças de Hipersensibilidade

As respostas imunes, que são a causa das doenças de hipersensibilidade, podem ser específicas para antígenos de diferentes fontes.

- ***Autoimunidade*: *reações contra autoantígenos.*** A falha dos mecanismos normais de autotolerância resulta em reações de células T e células B contra as próprias células e tecidos do indíviduo, chamadas **autoimunidade** (Capítulo 15). As doenças causadas pela autoimunidade são denominadas **doenças autoimunes**. Estima-se que as doenças autoimunes afetem pelo menos 2 a 5% da população nos países desenvolvidos e a incidência dessas doenças é crescente. Muitas dessas doenças são comuns em indivíduos da faixa etária entre 20 a 40 anos de idade. Elas também são mais comuns em mulheres do que em homens, por motivos que permanecem obscuros. As doenças autoimunes em geral são crônicas e frequentemente debilitantes, e representam um enorme problema médico e econômico. Embora esses distúrbios tenham se mostrado difíceis de tratar no passado, muitas terapias efetivas recentes baseadas em princípios científicos foram desenvolvidas desde a década de 1990. Os mecanismos de autoimunidade foram descritos no Capítulo 15. Neste capítulo, mencionaremos diversas doenças autoimunes para ilustrar como as reações imunes contra o próprio podem causar doenças.
- ***Reações contra microrganismos.*** As respostas imunes contra antígenos microbianos podem causar doença se as reações forem excessivas ou se os microrganismos forem anormalmente persistentes. As respostas das células T contra microrganismos persistentes podem dar origem a uma inflamação grave, algumas vezes com a formação de granulomas; essa é a causa da lesão tecidual observada na tuberculose e outras infecções crônicas. Se forem produzidos contra antígenos microbianos, os anticorpos podem se ligar aos antígenos para produzir imunocomplexos que se depositam nos tecidos e desencadeiam inflamação. Raramente, os anticorpos ou as células T contra um microrganismo apresentarão reação cruzada com o tecido do hospedeiro. Em alguns casos envolvendo o trato intestinal (p. ex.: enteropatia

inflamatória), a resposta imune é direcionada contra bactérias comensais que normalmente residem no intestino e não causam danos. Algumas vezes, os mecanismos que uma resposta imune usa para erradicar um microrganismo patogênico requerem a destruição das células infectadas e, portanto, inevitavelmente causam lesão ao tecido do hospedeiro. Por exemplo, na hepatite viral, o vírus que infecta as células hepáticas não é citopático, mas é reconhecido como estranho pelo sistema imunológico. Os linfócitos T citotóxicos (CTLs, do inglês, *cytotoxic T lymphocytes*) eliminam as células infectadas, e essa resposta imune normal causa danos às células do fígado. Esse tipo de reação normal não é considerada hipersensibilidade.

- ***Reações contra antígenos ambientais não microbianos.*** A maioria dos indivíduos saudáveis não reage contra substâncias ambientais comuns, geralmente inócuas, mas quase 20% da população é anormalmente responsiva a uma ou mais dessas substâncias. Esses indivíduos produzem anticorpos imunoglobulina E (IgE) que causam doenças alérgicas (Capítulo 20). Alguns indivíduos tornam-se sensibilizados a antígenos ambientais e substâncias químicas que, em contato com a pele, desenvolvem reações de células T que levam à inflamação mediada por citocinas, resultando em sensibilidade de contato. Reações imunológicas idiossincráticas contra fármacos terapêuticos são também um problema clínico frequente.

Em todas essas condições, os mecanismos de lesão tecidual são os mesmos que normalmente participam da eliminação de agentes infecciosos. Esses mecanismos incluem as respostas imunes inatas e adaptativas que envolvem fagócitos, anticorpos, linfócitos T, mastócitos e várias outras células efetoras, além dos mediadores da inflamação. O problema das doenças de hipersensibilidade é que a resposta imune não é controlada adequadamente ou é dirigida aos tecidos normais. Como os estímulos para essas respostas imunes anormais são frequentemente impossíveis de se eliminar (p. ex.: autoantígenos, microrganismos comensais e antígenos ambientais) e o sistema imune tem muitas alças de retroalimentação positiva intrínsecas (mecanismos de amplificação), assim que uma resposta imune patológica é iniciada, torna-se difícil controlá-la ou interrompê-la. Dessa maneira, essas doenças de hipersensibilidade tendem a ser crônicas e progressivas, e se apresentam como desafios terapêuticos da medicina clínica.

Por convenção, e especialmente em situações clínicas, o termo *hipersensibilidade* se refere a respostas imunes nocivas contra antígenos estranhos (antígenos ambientais, fármacos, microrganismos) e não é usado para descrever a lesão tecidual em doenças autoimunes. Entretanto, em nossa discussão, consideraremos todas as causas de reações imunes prejudiciais, enfatizando principalmente os mecanismos comuns de patogenicidade.

Mecanismos e Classificação das Reações de Hipersensibilidade

As doenças de hipersensibilidade são geralmente classificadas de acordo com o tipo de resposta imune e o mecanismo efetor responsável pela lesão celular e tecidual (Tabela 19.1). Alguns desses mecanismos são predominantemente dependentes de anticorpos, e outros, de células T, embora um papel para ambas as imunidades, humoral e mediada por células, seja frequemente encontrado em muitas doenças de hipersensibilidade. Revisaremos brevemente a classificação dessas doenças e então consideraremos em maiores detalhes as doenças mediadas por anticorpos e por células T.

- **Hipersensibilidade imediata (tipo I).** É causada por anticorpos IgE específicos para antígenos ambientais e é o tipo mais prevalente de doença de hipersensibilidade; será descrita separadamente, em detalhes, no Capítulo 20. As doenças de hipersensibilidade imediata, agrupadas como *alergia* ou *atopia*, são normalmente causadas pela ativação de células Th2 produtoras de interleucina-4 (IL-4), IL-5 e IL-13, e pela produção de anticorpos IgE que ativam mastócitos e eosinófilos e induzem inflamação.
- **Hipersensibilidade mediada por anticorpos (tipo II).** Anticorpos IgG e IgM específicos para antígenos da superfície celular ou da matriz extracelular podem causar lesão tecidual ativando o sistema complemento, recrutando células inflamatórias e interferindo nas funções celulares normais.
- **Hipersensibilidade mediada por imunocomplexos (tipo III).** Anticorpos IgM e IgG específicos para antígenos solúveis no sangue formam complexos com antígenos, e esses imunocomplexos podem se depositar nas paredes dos vasos sanguíneos em vários tecidos, causando inflamação, trombose e lesão tecidual.
- **Hipersensibilidade mediada por células T (tipo IV).** Nesses distúrbios, a lesão tecidual pode ser causada por linfócitos T que induzem inflamação ou matam diretamente as células-alvo. Em muitas dessas doenças, o principal mecanismo envolve a ativação de células T auxiliares $CD4^+$, as quais secretam citocinas que promovem inflamação e ativam leucócitos, principalmente

neutrófilos e macrófagos. Os linfócitos T citotóxicos (CTLs, do inglês, *cytotoxic T lymphocytes*) contribuem para a lesão tecidual em algumas doenças.

Tabela 19.1

Classificação das Doenças de Hipersensibilidade

Tipo de Hipersensibilidade	Mecanismos Imunopatológicos	Mecanismos de Lesão Tecidual e Doença
Imediata: Tipo I	Anticorpo IgE, Células Th2	Mastócitos, eosinófilos e seus mediadores (aminas vasoativas, mediadores lipídicos, citocinas)
Mediada por anticorpos: Tipo II	Anticorpos IgM e IgG contra antígenos de superfície celular ou da matriz extracelular	Opsonização e fagocitose de células Recrutamento e ativação de leucócitos (neutrófilos e macrófagos) mediadas por receptor Fc e complemento Anormalidades nas funções celulares, por exemplo, sinalização por receptor de hormônio, bloqueio de receptor neurotransmissor
Mediada por imunocomplexos: Tipo III	Imunocomplexos de antígenos circulantes e anticorpos IgM ou IgG	Recrutamento e ativação de leucócitos mediados por receptor Fc e complemento
Mediada por célula T: Tipo IV	1. Células T $CD4^+$ (Th1 e Th17) 2. CTLs $CD8^+$	1. Inflamação mediada por citocinas e ativação de macrófagos 2. Morte celular direta, inflamação mediada por citocinas

CTLs, Linfócitos T citotóxicos; *Ig*, imunoglobulina.

Na discussão que se segue, serão usadas descrições que identificam os mecanismos patogênicos em vez das designações numéricas dos tipos de hipersensibilidades que são menos informativas. Essa classificação é útil porque tipos distintos de respostas imunopatológicas apresentam diferentes padrões de lesão tecidual e podem variar em relação à sua especificidade tecidual. Como resultado, os diferentes mecanismos imunológicos causam distúrbios com características clínicas e patológicas distintas. Entretanto, as doenças imunológicas nos seres humanos são frequentemente complexas e causadas por combinações de respostas imunes humorais e mediadas por células, além de múltiplos mecanismos efetores. Essa complexidade não é surpreendente, dado que um único antígeno pode normalmente estimular ambas as respostas imunes,

humoral e mediada por células, nas quais são produzidos diversos tipos de anticorpos e de células T efetoras.

Com essa introdução, vamos proceder a uma discussão sobre as doenças mediadas por anticorpos e por células T.

Doenças Causadas por Anticorpos

Doenças mediadas por anticorpos são decorrentes da ligação de anticorpos a antígenos em determinadas células ou tecidos extracelulares ou, ainda, em consequência da formação de complexos antígeno-anticorpo na circulação com subsequente deposição nas paredes dos vasos (Fig. 19.1). Os anticorpos produzidos contra antígenos celulares ou teciduais causam doenças que afetam especificamente as células ou tecidos onde esses antígenos estão presentes e, desse modo, estas doenças são frequentemente órgão-específicas e não sistêmicas. Ao contrário, as manifestações das doenças causadas por imunocomplexos refletem o local da deposição desses imunocomplexos e não são determinadas pela fonte celular do antígeno. Dessa maneira, as doenças mediadas por imunocomplexos tendem a ser sistêmicas e afetam múltiplos órgãos e tecidos, embora alguns sejam particularmente suscetíveis, como os rins e as articulações.

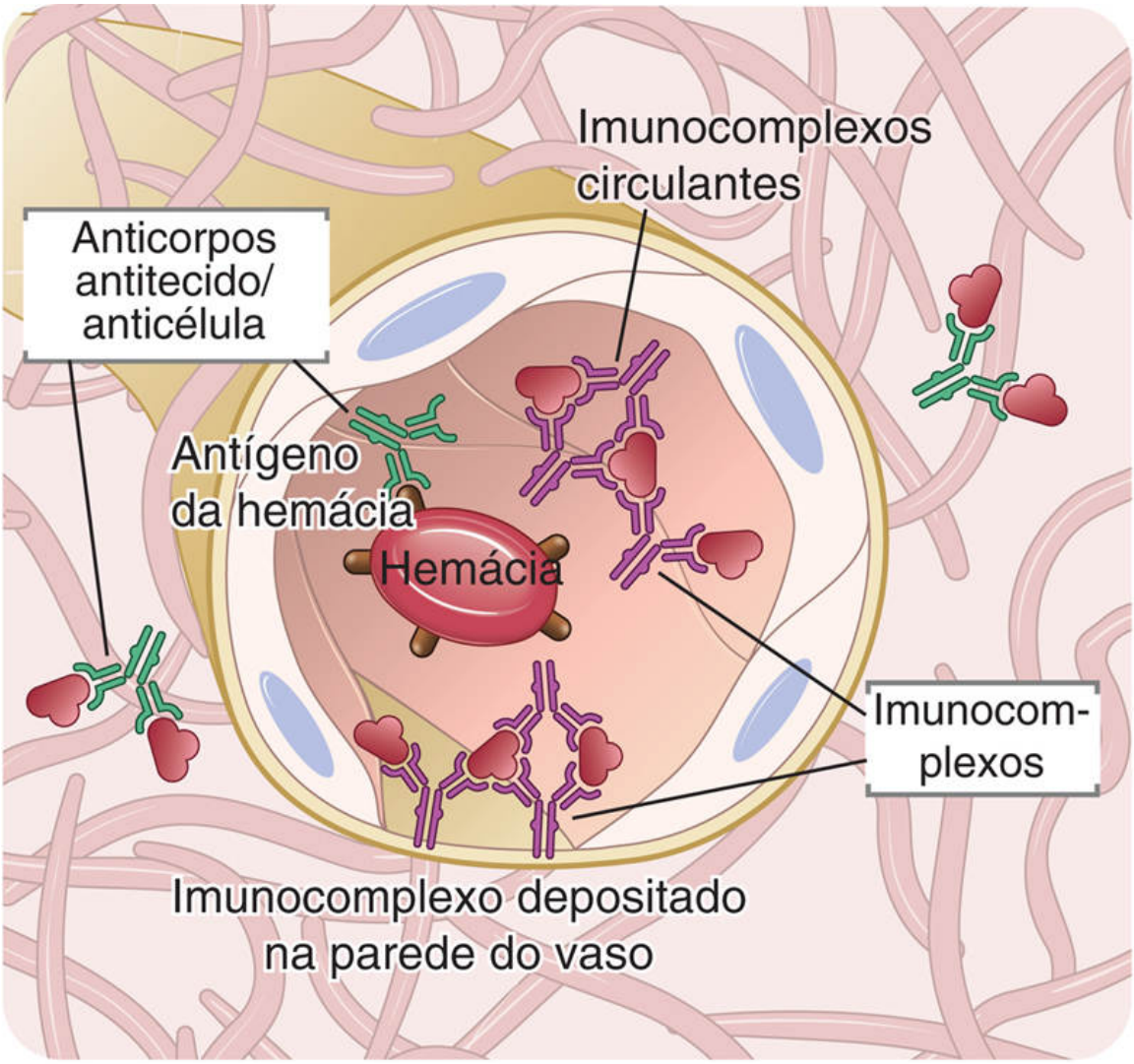


FIGURA 19.1 Tipos anticorpos que causam doença.
Esta figura ilustra as diferentes formas pelas quais os anticorpos podem causar doença. *Anticorpos antitecido/anticélula*: os anticorpos podem se ligar especificamente a antígenos teciduais, e os leucócitos recrutados causam lesão tecidual ou os anticorpos podem se ligar às células (nesse exemplo, hemácias circulantes) e promover sua depleção. *Imunocomplexos*: complexos de anticorpos e antígenos podem ser formados na circulação e se depositar nas paredes dos vasos sanguíneos, onde induzem inflamação.

Para provar que a doença é causada por anticorpos, seria necessário demonstrar que as lesões podem ser induzidas em um animal normal pela transferência adotiva de imunoglobulina purificada do sangue ou dos tecidos afetados de indivíduos com a doença. Ocasionalmente, é possível observar uma situação dessa natureza em crianças cujas mães sofrem de doenças mediadas por anticorpos. Essas crianças podem nascer com

manifestações transitórias de tais doenças em decorrência da passagem transplacentária de anticorpos. No entanto, em situações clínicas, o diagnóstico de doenças causadas por anticorpos ou imunocomplexos geralmente se baseia na demonstração de anticorpos ou de imunocomplexos na circulação ou depositados nos tecidos, além das semelhanças clinicopatológicas com doenças experimentais que se provaram ser mediadas por transferência adotiva de anticorpos.

Doenças Causadas por Anticorpos contra Células Fixas e Antígenos Teciduais

Os anticorpos contra antígenos de tecidos produzem doença por três mecanismos principais (Fig. 19.2):

- ***Opsonização e fagocitose.*** Os anticorpos que se ligam a antígenos da superfície celular podem opsonizar diretamente as células ou ativar o sistema complemento, resultando na produção de proteínas do complemento que opsonizam as células. Essas células opsonizadas são fagocitadas e destruídas pelos fagócitos que expressam receptores para a porção Fc dos anticorpos IgG e receptores para proteínas do complemento. Esse é o principal mecanismo de destruição celular na anemia hemolítica autoimune e na trombocitopenia autoimune, nas quais anticorpos específicos para hemácias ou plaquetas, respectivamente, levam à opsonização e remoção dessas células da circulação. O mesmo mecanismo é responsável pela hemólise nas reações transfusionais (Capítulo 17).
- ***Inflamação.*** Os anticorpos depositados nos tecidos ativam o complemento, levando à liberação de produtos de clivagem, como o C5a e o C3a, que recrutam neutrófilos e macrófagos. Esses leucócitos expressam receptores para Fc e receptores paracomplemento que ligam anticorpos ou proteínas ligadas do complemento. Os leucócitos são ativados pela sinalização dos receptores (particularmente receptores Fc), enquanto produtos de leucócitos (incluindo enzimas lisossomais e espécies reativas de oxigênio) são liberados e produzem lesão tecidual. A glomerulonefrite é um exemplo de inflamação mediada por anticorpos e ativação leucocitária que causam lesão tecidual.
- ***Funções celulares anormais.*** Os anticorpos que se ligam a receptores celulares normais ou outras proteínas podem interferir

com as funções desses receptores ou proteínas e causar doença sem inflamação ou dano tecidual. Por exemplo, anticorpos específicos contra o receptor do hormônio estimulador da tireoide ou contra o receptor nicotínico da acetilcolina provocam anormalidades funcionais que levam à doença de Graves e à miastenia grave, respectivamente (Fig. 19.2C). Os anticorpos específicos para o fator intrínseco, necessário para a absorção de vitamina B12, causam anemia perniciosa. Anticorpos específicos para citocinas são causas conhecidas de imunodeficiências, ainda que raras.

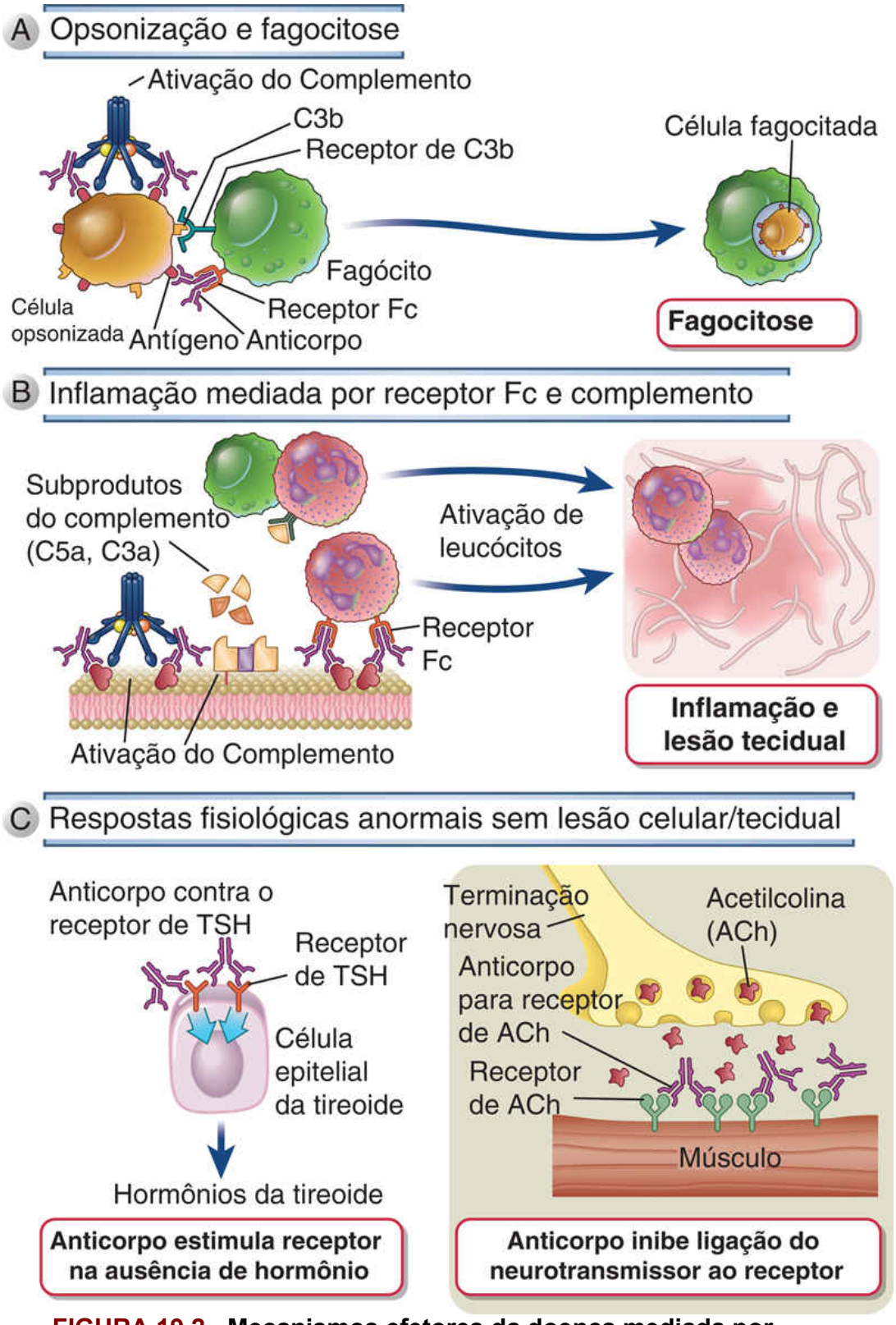


FIGURA 19.2 Mecanismos efetores da doença mediada por anticorpo.

A, Os anticorpos opsonizam as células e podem ativar o

complemento, cujos produtos também opsonizam células, levando à sua fagocitose por meio dos receptores Fc ou dos receptores para C3b nos fagócitos. **B**, Os anticorpos recrutam os leucócitos pela ligação aos receptores Fc ou pela ativação do complemento e, desse modo, liberam subprodutos que são quimiotáticos para leucócitos. **C**, Os anticorpos específicos para receptores de hormônios ou de neurotransmissores da superfície celular interferem com a fisiologia normal. Por exemplo, na doença de Graves (*painel esquerdo*), autoanticorpos específicos para o receptor do hormônio estimulador da tireoide (TSH, do inglês, *thyroid stimulating hormone*) na glândula tireoide estimula a atividade dos receptores mesmo na ausência de TSH, causando liberação excessiva dos hormônios da tireoide (hipertireoidismo). Na miastenia grave (*painel direito*), autoanticorpos específicos para o receptor da acetilcolina em células musculares bloqueiam a ação da acetilcolina, levando à paralisia.

Os anticorpos que causam doenças específicas de células ou de tecidos são geralmente autoanticorpos produzidos como parte de uma reação autoimune, mas, algumas vezes, são anticorpos específicos para microrganismos. Exemplos de autoanticorpos contra antígenos teciduais estão listados na Tabela 19.2. Menos frequentemente, os anticorpos podem ser produzidos contra um antígeno estranho (p. ex.: microbiano) que, imunologicamente, reagem de forma cruzada com um componente dos tecidos próprios. Em uma rara sequela de infecção estreptocócica conhecida como febre reumática, os anticorpos produzidos contra as bactérias reagem de forma cruzada com antígenos do coração, depositam-se neste órgão e causam inflamação e dano tecidual. Os depósitos teciduais de anticorpos podem ser detectados por exame morfológico em algumas dessas doenças, e a deposição de anticorpo frequentemente está associada à ativação local de complemento, inflamação e lesão tecidual (Fig. 19.3A).

Tabela 19.2

Exemplos de Doenças Causadas por Anticorpos Específicos para Células ou Tecidos

Doença	Antígeno-alvo	Mecanismos da Doença	Manifestações Clinicopatológicas
Anemia hemolítica autoimune	Proteínas da membrana de eritrócitos	Opsonização e fagocitose de eritrócitos, lise mediada pelo complemento	Hemólise, anemia
Púrpura trombocitopênica autoimune	Proteína da membrana de plaquetas (integrina gpIIb-IIIa)	Opsonização e fagocitose de plaquetas	Sangramento
Pênfigo vulgar	Proteínas da junção intercelular de células epidérmicas (desmogleína)	Ativação de proteases mediada por anticorpos, disrupção das adesões intercelulares	Vesículas cutâneas (bolhas)
Vasculite causada por ANCA	Proteínas dos grânulos de neutrófilos, presumidamente liberadas por neutrófilos ativados	Desgranulação de neutrófilos e inflamação	Vasculite
Síndrome de Goodpasture	Proteína NC1 não colagenosa da membrana basal de glomérulos e pulmões	Inflamação mediada por receptor Fc e complemento	Nefrite, hemorragia pulmonar
Febre reumática aguda	Antígeno da parede celular de estreptococos; anticorpos que apresentam reação cruzada com antígenos miocárdicos	Inflamação, ativação de macrófagos	Miocardite, artrite
Miastenia grave	Receptor de acetilcolina	Anticorpo inibe ligação da acetilcolina, modulação negativa dos receptores	Fraqueza muscular, paralisia
Doença de Graves (hipertireoidismo)	Receptor do TSH	Estimulação de receptores do TSH mediada por anticorpos	Hipertireoidismo

Doença	Antígeno-alvo	Mecanismos da Doença	Manifestações Clinicopatológicas
Anemia perniciosa	Fator intrínseco de células parietais gástricas	Neutralização do fator instrínseco; absorção reduzida da vitamina B_{12}	Eritropoiese anormal, anemia, sintomas neurológicos

ANCA, Anticorpos anticitoplasma de neutrófilo; *TSH*, hormônio estimulador da tireoide.

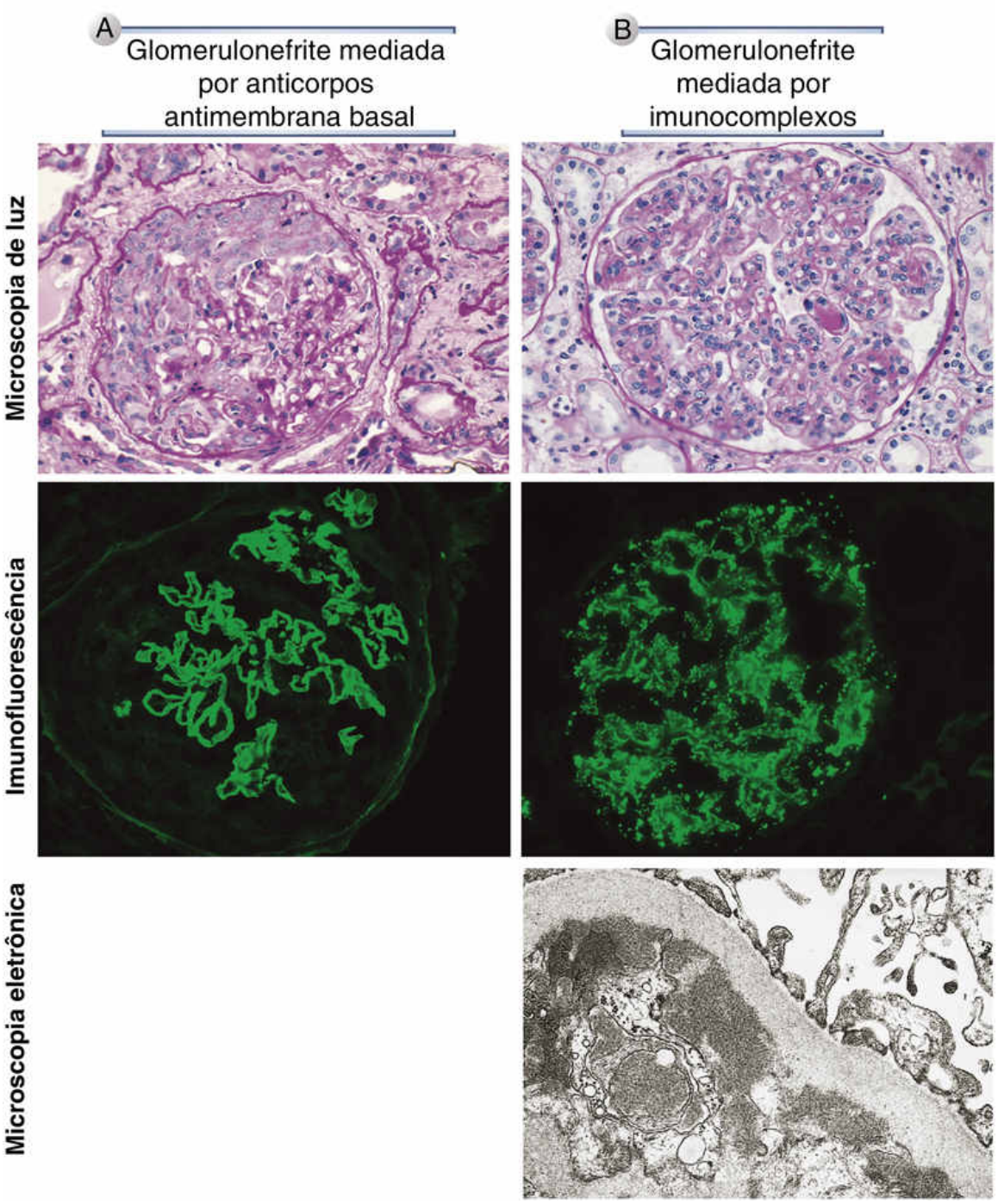


FIGURA 19.3 Características patológicas da glomerulonefrite mediada por anticorpos.
A, Glomerulonefrite induzida por um anticorpo contra a membrana basal glomerular (síndrome de Goodpasture): a micrografia de luz mostra a inflamação glomerular e o dano grave, enquanto a imunofluorescência mostra os depósitos planos (lineares) dos anticorpos ao longo da membrana basal. **B,** Glomerulonefrite induzida pela deposição de imunocomplexos (lúpus eritematoso

sistêmico): a micrografia de luz mostra a inflamação neutrofílica, enquanto a imunofluorescência e a eletromicrografia mostram os depósitos grosseiros (granulares) de complexos antígeno-anticorpo ao longo da membrana basal. (As micrografias de imunofluorescência são uma cortesia do Dr. Jean Olson, Department of Pathology, University of California, San Francisco; a eletromicrografia é uma cortesia do Dr. Helmut Rennke, Department of Pathology, Brigham and Women's Hospital, Boston, Massachusetts.)

Doenças Mediadas por Imunocomplexos

Os imunocomplexos que causam doença podem ser compostos por anticorpos ligados a autoantígenos ou a antígenos estranhos.

No início dos anos 1900, um médico perspicaz chamado Clemens von Pirquet suspeitou da ocorrência de doenças causadas por imunocomplexos. Naquele tempo, as infecções diftéricas eram tratadas com soros provenientes de cavalos que haviam sido imunizados com a toxina diftérica — um exemplo de imunização passiva contra a toxina por meio da transferência de soro contendo anticorpos antitoxina. Von Pirquet percebeu que pacientes injetados com soro equino contendo a antitoxina desenvolviam inflamação das articulações (artrite), erupção cutânea e febre. As características clínicas dessa reação sugeriram que isso não era resultado da infeção ou de um componente tóxico do próprio soro. Os sintomas apareciam pelo menos 1 semana após a primeira injeção do soro de cavalo e mais rapidamente após cada repetição da injeção. Von Pirquet concluiu que essa doença era causada por uma resposta do hospedeiro a algum componente do soro. Ele sugeriu que o hospedeiro produzia anticorpos contra as proteínas séricas do cavalo; esses anticorpos formavam complexos com as proteínas injetadas, e a doença resultava dos anticorpos ou dos imunocomplexos produzidos. Sabemos agora que suas conclusões eram inteiramente corretas. Ele chamou essa condição de doença sérica (*serum disease*). A mesma reação também foi observada em humanos que recebiam soroterapia para o tétano, a qual hoje em dia é mais frequemente conhecida como doença do soro (*serum sickness*). Esse quadro permanece uma preocupação clínica nos dias atuais, em indivíduos que recebem anticorpos monoclonais terapêuticos produzidos em roedores que não contêm sequências humanas ou antissoros produzidos em animais que são usados para o tratamento de picadas de cobras ou da raiva.

Modelos Experimentais de Doenças Mediadas por Imunocomplexos

Doença do Soro

Muito do nosso conhecimento atual sobre doenças causadas por imunocomplexos está baseado em análises de modelos experimentais da doença do soro. A imunização de um animal (p. ex.: um coelho) com uma alta dose de um antígeno proteico estranho leva à formação de anticorpos contra o antígeno (Fig. 19.4). Esses anticorpos ligam-se e formam complexos com o antígeno circulante, e os complexos são inicialmente removidos por macrófagos no fígado e no baço. À medida que mais e mais complexos antígeno-anticorpo são formados, alguns deles depositam-se em leitos vasculares. Nesses tecidos, os complexos induzem inflamação rica em neutrófilos pela ativação da via clássica do complemento e pelo acoplamento a receptores Fc em leucócitos. Como os complexos são frequentemente depositados em pequenas artérias, glomérulos renais e sinóvia das articulações, as manifestações clínicas e patológicas mais comuns são vasculite, nefrite e artrite. Os sintomas clínicos são geralmente de curta duração, e as lesões se curam a menos que o antígeno seja injetado novamente. Esse tipo de doença é um exemplo de doença do soro aguda. Uma doença mais indolente e prolongada, denominada doença do soro crônica, é produzida por meio de múltiplas injeções de antígeno, o que leva à formação de complexos menores que normalmente se depositam nos rins, nas artérias e nos pulmões.

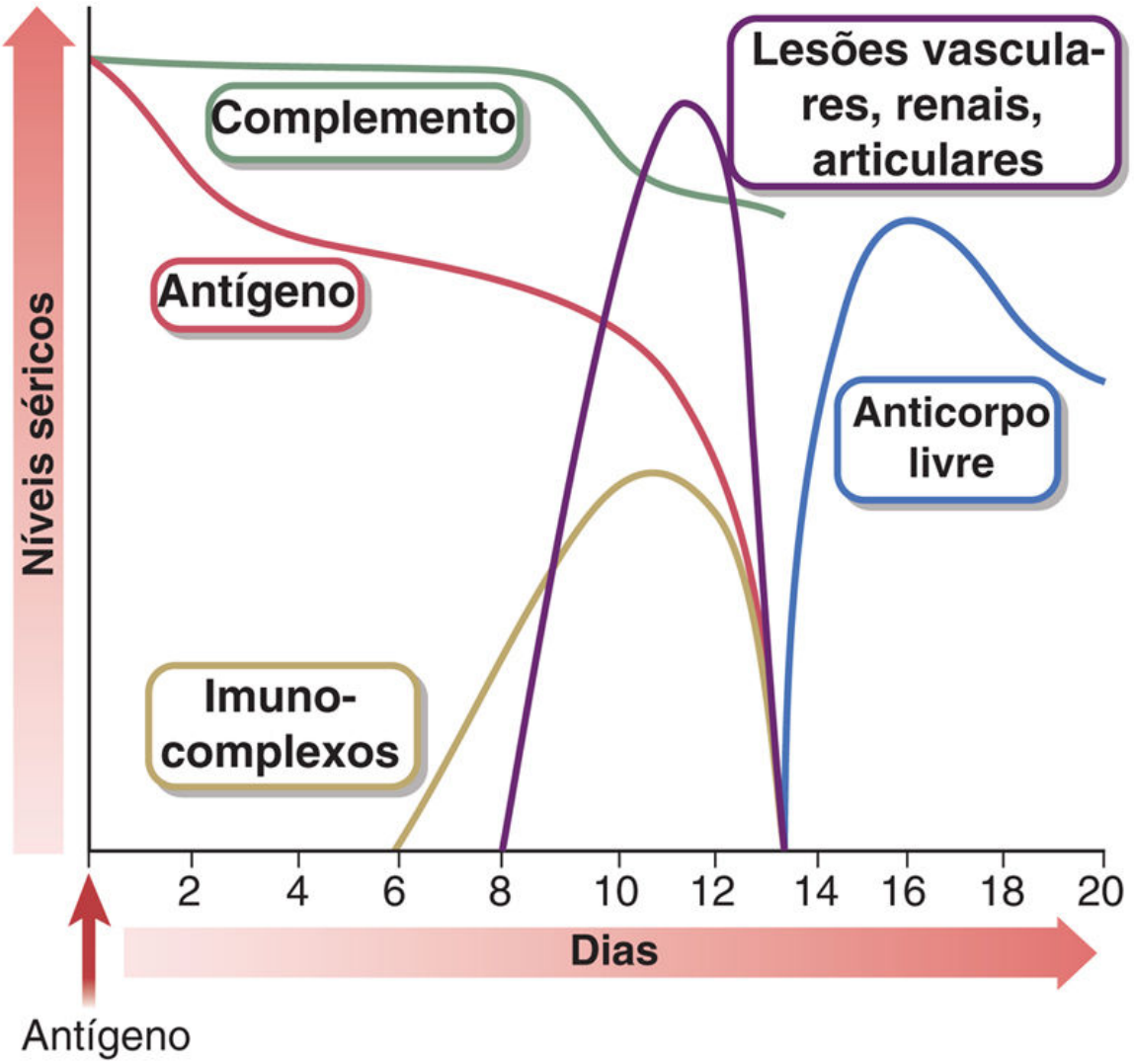


FIGURA 19.4 Sequência das respostas imunológicas na doença do soro aguda experimental.
A injeção de albumina sérica bovina em um coelho leva à produção de anticorpos específicos e à formação de imunocomplexos. Esses complexos se depositam em diversos tecidos, ativam o complemento (levando à redução dos níveis séricos do complemento) e causam lesões inflamatórias. Essas lesões se resolvem a medida que os complexos e o antígeno remanescente são removidos e anticorpos livre (não ligados ao antígeno) aparecem na circulação. (Adaptado de Cochrane CG: Immune complex-mediated tissue injury. In Cohen S, Ward PA, McCluskey RT [eds.]: Mechanisms of immunopathology, New York, 1979, Werbel & Peck, pp 29-48. Copyright © 1979, Wiley-Liss, Inc.)

Reação de Arthus

Uma forma localizada de vasculite experimental mediada por imunocomplexo é chamada reação de Arthus. Essa reação é induzida pela injeção subcutânea de um antígeno em um animal previamente imunizado ou em um animal que tenha recebido uma injeção intravenosa de anticorpos específicos para o antígeno. Os anticorpos circulantes ligam-se rapidamente ao antígeno injetado e formam imunocomplexos que são depositados nas paredes de pequenos vasos no local da injeção. Essa deposição dá origem a uma vasculite cutânea local, com trombose dos vasos afetados, levando à necrose tecidual. A relevância clínica da reação de Arthus é limitada; raramente, um indivíduo que recebeu uma dose de reforço de uma vacina pode desenvolver inflamação no local da injeção em decorrência do acúmulo local de imunocomplexos, como em uma reação de Arthus.

Patogênese das Doenças Mediadas por Imunocomplexos

A quantidade de imunocomplexos depositados nos tecidos é determinada pela natureza dos complexos e pelas características dos vasos sanguíneos. Os complexos antígeno-anticorpo são gerados durante as respostas imunes normais, mas somente causam doença quando são produzidos em quantidades excessivas, não são eficientemente removidos e se depositam nos tecidos. Pequenos complexos não são normalmente fagocitados e tendem a se depositar nos vasos em maior proporção do que os grandes complexos, geralmente removidos pelos fagócitos. Os complexos contendo antígenos catiônicos ligam-se avidamente a componentes negativamente carregados das membranas basais dos vasos sanguíneos e dos glomérulos renais. Tais complexos geralmente produzem lesão tecidual grave e de longa duração. Os capilares dos glomérulos renais e da sinóvia são locais onde o plasma é ultrafiltrado (para formar a urina e o líquido sinovial, respectivamente), passando a alta pressão através de membranas basais especializadas, sendo que essas localizações estão entre os sítios mais comuns de deposição de imunocomplexos. No entanto, os imunocomplexos podem se depositar nos pequenos vasos de praticamente qualquer tecido. Depósitos de anticorpo e de complemento podem ser detectados nos vasos e, se o antígeno for conhecido, também é possível identificar as moléculas de antígeno nos depósitos (Fig. 19.3B). Os imunocomplexos depositados nas paredes dos vasos e nos tecidos ativam os leucócitos e mastócitos que secretam citocinas e mediadores vasoativos. Esses mediadores podem ampliar a deposição dos imunocomplexos nas

paredes dos vasos pelo aumento da permeabilidade vascular e do fluxo sanguíneo.

O principal mecanismo de lesão tecidual nas doenças causadas por imunocomplexos é a inflamação no interior das paredes dos vasos sanguíneos, resultando em ativação do complemento e ligação de receptores Fc presentes nos leucócitos aos anticorpos dos complexos depositados. Esse é o mesmo mecanismo que causa lesão na doença do soro, descrita anteriormente.

Muitas doenças imunológicas sistêmicas em seres humanos são causadas pela deposição de imunocomplexos nos vasos sanguíneos (Tabela 19.3). O lúpus eritematoso sistêmico (LES) é uma doença autoimune na qual complexos constituídos de antígenos nucleares e anticorpos depositam-se nos vasos sanguíneos dos glomérulos renais, pele e muitos outros tecidos. Em um tipo de vasculite mediada por imunocomplexos envolvendo artérias musculares de calibre médio chamada poliarterite nodosa, os complexos são constituídos de antígenos virais e anticorpos e a doença é uma complicação tardia da infeção viral, frequentemente associada ao vírus da hepatite B. Esse também é o mecanismo de uma doença chamada glomerulonefrite pós-estreptocócica, que se desenvolve em casos raros após a infeção estreptocócica e é causada por complexos de antígenos estreptocócicos e anticorpos que se depositam nos glomérulos renais. Em algumas formas de glomerulonefrite, os imunocomplexos não são detectados na circulação, levando ao postulado de que os antígenos são inicialmente fixados no rim e os complexos se formam localmente.

Tabela 19.3

Exemplos de Doenças Humanas Mediadas por Imunocomplexos

Doença	Antígeno Envolvido	Manifestações Clinicopatológicas
Lúpus eritematoso sistêmico	DNA, nucleoproteínas, outros	Nefrite, artrite, vasculite
Poliarterite nodosa	Antígeno da superfície do vírus da hepatite B (em alguns casos)	Vasculite
Glomerulonefrite pós-estreptocócica	Antígenos da parece celular de estreptococos	Nefrite
Doença do soro	Várias proteínas	Artrite, vasculite, nefrite

Doenças Causadas por Linfócitos T

Os linfócitos T provocam lesão tecidual pela produção de citocinas que induzem inflamação ou pela destruição direta das células-alvo (Fig. 19.5). As reações inflamatórias são desencadeadas principalmente por células T $CD4^+$ das subpopulações Th1 e Th17. Em algumas doenças mediadas por células T, o principal mecanismo de lesão tecidual é o *killing* de células pelos CTLs $CD8^+$. As células T que causam lesão tecidual podem ser autorreativas ou específicas para os antígenos proteicos estranhos que estão presentes ou ligados às células ou tecidos. A lesão tecidual mediada por linfócitos T também pode ser acompanhada de fortes respostas imunes protetoras contra microrganismos persistentes, especialmente os intracelulares, que resistem à erradicação pelos fagócitos e anticorpos.

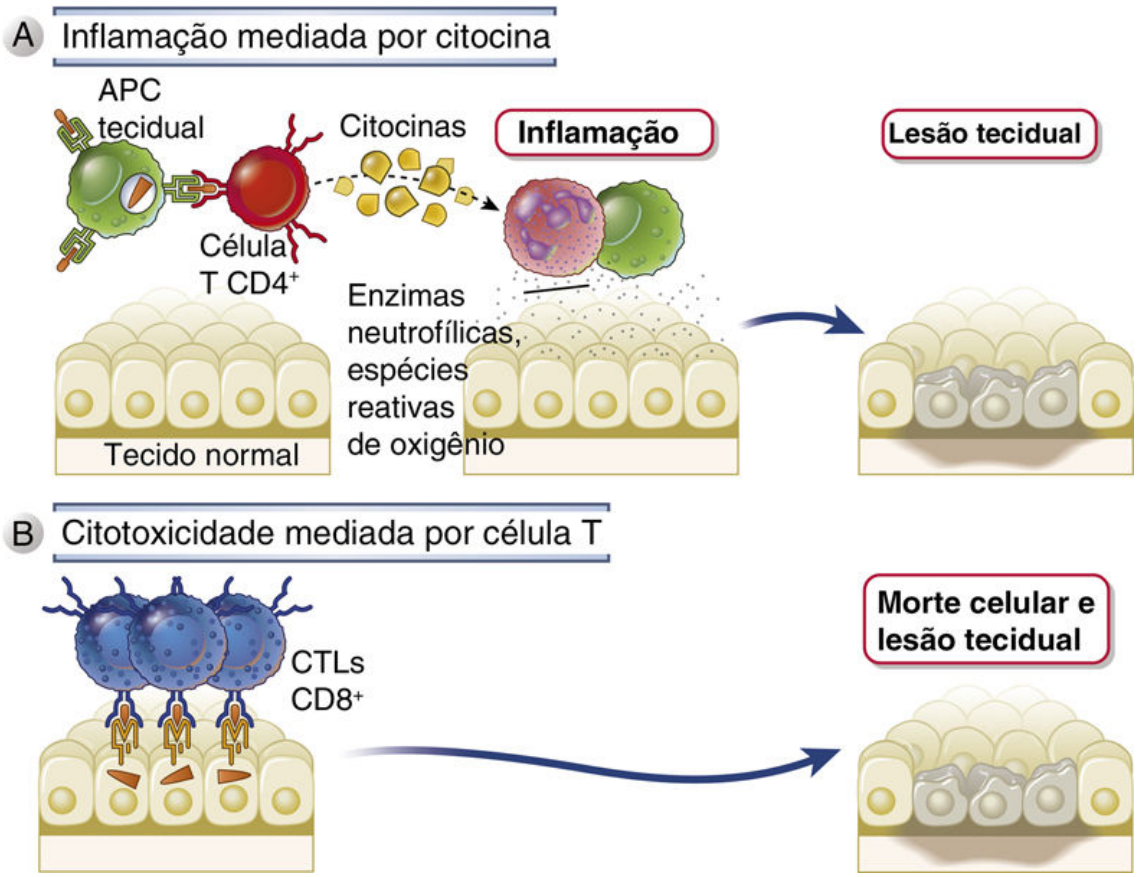


FIGURA 19.5 Mecanismos das doenças mediadas por células T.
A, Nas reações inflamatórias mediadas por citocinas, as células T $CD4^+$ (e algumas vezes, as células $CD8^+$) respondem aos antígenos teciduais secretando citocinas que estimulam a inflamação e ativam leucócitos, causando lesão tecidual. **B,** Em algumas doenças, os CTLs $CD8^+$ destroem diretamente as células teciduais. *APC*, Célula apresentadora de antígeno.

A suspeita de um papel das células T como causadoras de uma doença imunológica específica ocorre, principalmente, em decorrência da demonstração da presença de células T em lesões e da detecção de níveis aumentados de citocinas no sangue ou tecidos que podem ser derivadas de células T. Os modelos animais foram muito úteis na elucidação da patogênese dessas doenças.

Doenças Causadas pela Inflamação Mediada por Citocinas

Na inflamação imunomediada, as células Th1 e Th17 secretam citocinas que recrutam e ativam leucócitos. A IL-17, produzida por células Th17, promove o recrutamento de neutrófilos; o interferon-γ (IFN-γ), produzido por células Th1, ativa macrófagos; e o fator de necrose tumoral (TNF, do inglês, *tumor necrosis factor*) e as quimiocinas, produzidos pelos linfócitos T e células da imunidade inata (tais como células dendríticas e macrófagos), estão envolvidos no recrutamento e ativação de muitos tipos de leucócitos. Embora tenha sido enfatizado que as células $CD4^+$ Th1 e Th17 são as fontes de muitas dessas citocinas, várias outras células podem produzir as mesmas citocinas nas lesões. Por exemplo, em alguns modelos animais de inflamação cutânea crônica, a fonte de IL-17 no início do curso da doença parece ser as células T γδ, enquanto muitas das mesmas citocinas produzidas pelas células T também são secretadas pelas células linfoides inatas teciduais.

A lesão tecidual resulta de produtos dos neutrófilos e macrófagos recrutados e ativados, tais como enzimas lisossomais e as espécies reativas de oxigênio. As citocinas produzidas por linfócitos e macrófagos ativados estimulam o recrutamento de mais leucócitos e a inflamação, assim propagando a lesão (Capítulo 10). As células endoteliais vasculares nas lesões podem expressar níveis aumentados de proteínas de superfície reguladas por citocinas, tais como moléculas de adesão e moléculas do MHC de classe II. A inflamação associada a doenças mediadas por células T normalmente é crônica, mas crises de inflamação aguda podem se sobrepor em uma condição de inflamação crônica de fundo. A hipersensibilidade do tipo tardio (DTH, do inglês, *delayed-type hypersensitivity*) é um exemplo dessas reações inflamatórias e será descrita mais adiante. As reações inflamatórias crônicas frequentemente produzem fibrose como resultado da secreção de citocinas e de fatores de crescimento por macrófagos e células T.

Muitas doenças autoimunes órgão-específicas são causadas pela ativação de células T autorreativas por autoantígenos, levando à liberação de citocinas e inflamação. Acredita-se que esse seja o principal mecanismo subjacente da artrite reumatoide, da esclerose múltipla, do diabetes tipo 1, da psoríase e de outras doenças autoimunes (Tabela 19.4). Algumas dessas doenças são descritas em mais detalhes ao final deste capítulo.

Tabela 19.4

Doenças Mediadas por Células T

Doença	Especificidade da Célula T Patogênica	Mecanismos Principais do Dano Tecidual
Artrite reumatoide	Colágeno? Proteínas próprias citrulinadas?	Inflamação mediada por citocinas Th1e Th17 Papel dos anticorpos e imunocomplexos?
Esclerose múltipla	Antígenos proteicos da mielina (p. ex.: proteína básica da mielina)	Inflamação mediada por citocinas Th1 e Th17; destruição da mielina por macrófagos ativados
Diabetes *mellitus* tipo 1	Antígenos das células β das ilhotas pancreáticas (insulina, descarboxilase do ácido glutâmico, outros)	Inflamação mediada por células T; destruição das células das ilhotas por CTLs
Enteropatia inflamatória	Bactéria entérica. Autoantígenos?	Inflamação mediada por citocinas Th1 e Th17
Psoríase	Antígenos de pele desconhecidos	Inflamação mediada por citocinas derivadas de células T

As reações de células T específicas para microrganismos e outros antígenos estranhos também podem levar à inflamação e à lesão tecidual. Bactérias intracelulares, tais como *Mycobacterium tuberculosis*, induzem fortes respostas de células T e de macrófagos que resultam em inflamação granulomatosa e fibrose (descritas mais adiante); a inflamação e a fibrose podem causar destruição extensa do tecido e prejuízo funcional, tipicamente nos pulmões. A tuberculose é um bom exemplo de uma doença infecciosa na qual a lesão tecidual se deve, principalmente, à resposta imune do hospedeiro (Capítulo 16). Acredita-se que as respostas de células T contra bactérias intestinais constituam a base de muitas formas de enteropatias inflamatórias.

Uma variedade de doenças cutâneas, chamadas sensibilidade de contato, resultam da exposição tópica a produtos químicos e antígenos ambientais. Essas doenças são causadas por reações inflamatórias provavelmente desencadeadas por neoantígenos formados pela ligação de produtos químicos a proteínas próprias, incluindo moléculas do MHC. Ambas as células T, $CD4^+$ e $CD8^+$, podem ser a fonte de citocinas nas reações de sensibilidade de contato. Exemplos de hipersensibilidade de contato incluem erupções cutâneas induzidas por hera venenosa e carvalho venenoso (nas quais as células T reagem contra proteínas

próprias que foram modificadas por substâncias químicas produzidas pelas plantas, denominadas uruxióis) e erupções cutâneas induzidas pelo contato com metais (níquel e berílio), além de uma variedade de produtos químicos, tais como tiourama, que é utilizado na fabricação de luvas de látex. Algumas dessas reações tornam-se crônicas e são chamadas clinicamente de **eczema**. Erupções cutâneas causadas por respostas a fármacos terapêuticos estão entre as reações imunes mais comuns em humanos e são exemplos de sensibilidade de contato.

A reação inflamatória clássica mediada por células T é chamada de **hipersensibilidade do tipo tardio** e será descrita a seguir.

Hipersensibilidade do Tipo Tardio (DTH)

A DTH é uma reação inflamatória prejudicial mediada por citocinas resultante da ativação de células T, particularmente das células T CD4$^+$. A reação é chamada tardia porque se desenvolve tipicamente 24 a 48 horas após o desafio antigênico em indivíduos previamente imunizados (sensibilizados), em contraste com as reações de hipersensibilidade imediata (alérgicas), que se desenvolvem em minutos (Capítulo 20).

No modelo animal clássico de DTH, uma cobaia foi primeiro imunizada pela administração de um antígeno proteico emulsificado em adjuvante; esse passo é chamado sensibilização. Cerca de 2 semanas depois, o animal foi desafiado por via subcutânea com o mesmo antígeno e a subsequente reação foi analisada; esse passo é chamado fase de elicitação. Humanos podem ser sensibilizados para as reações de DTH por infeção microbiana, por sensibilização de contato com produtos químicos e antígenos ambientais, ou por injeção intradérmica ou subcutânea de antígenos proteicos (Fig. 19.6). A exposição subsequente ao mesmo antígeno (chamada desafio) provoca a reação. Por exemplo, o derivado proteico purificado (PPD, do inglês, *purified protein derivative*), um antígeno proteico do *Mycobacterium tuberculosis*, induz uma reação de DTH chamada reação de tuberculina quando é injetado em indivíduos previamente expostos ao *M. tuberculosis*. Uma resposta positiva do teste cutâneo para tuberculina é um indicador clínico amplamente utilizado para avaliar infecção prévia ou ativa de tuberculose.

FIGURA 19.6 Reação de hipersensibilidade do tipo tardio (DTH).
A infecção ou imunização (vacinação) sensibiliza um indivíduo, e o

desafio subsequente com um antígeno do agente infeccioso elicita uma reação de DTH. A reação se manifesta pelo endurecimento com eritema e inchaço no local do desafio, com pico em aproximadamente 48 horas. (Cortesia do Dr. J. Faix, Department of Pathology, Stanford University School of Medicine, Palo Alto, California.)

A resposta característica da DTH se desenvolve durante 24 a 48 horas. Cerca de 4 horas após a injeção do antígeno em um indivíduo sensibilizado, os neutrófilos acumulam-se em torno das vênulas pós-capilares no local da injeção. Após 12 horas, aproximadamente, o local da injeção torna-se infiltrado por células T e monócitos sanguíneos, também organizados em uma distribuição perivenular (Fig. 19.7). As células endoteliais que revestem essas vênulas tornam-se intumescidas, exibem aumento de organelas biossintéticas, e os vasos extravasam macromoléculas plasmáticas. Há escape de fibrinogênio dos vasos sanguíneos para os tecidos circundantes, onde é convertido em fibrina. A deposição de fibrina, o edema e o acúmulo de células T e de monócitos no espaço extravascular do tecido em torno do local da injeção promovem o inchaço do tecido, que se torna firme (endurecido). O endurecimento, um diagnóstico característico da DTH, é detectável por cerca de 18 horas após a injeção do antígeno e torna-se máximo 24 a 48 horas depois. Na prática clínica, a perda de respostas de DTH para antígenos universalmente encontrados (p. ex.: antígenos de *Candida*) é uma indicação de deficiência da função das células T, uma condição conhecida como **anergia**. (Essa perda geral da responsividade imunológica é diferente da anergia de linfócitos, um mecanismo para a manutenção da tolerância a antígenos específicos, discutida no Capítulo 15.)

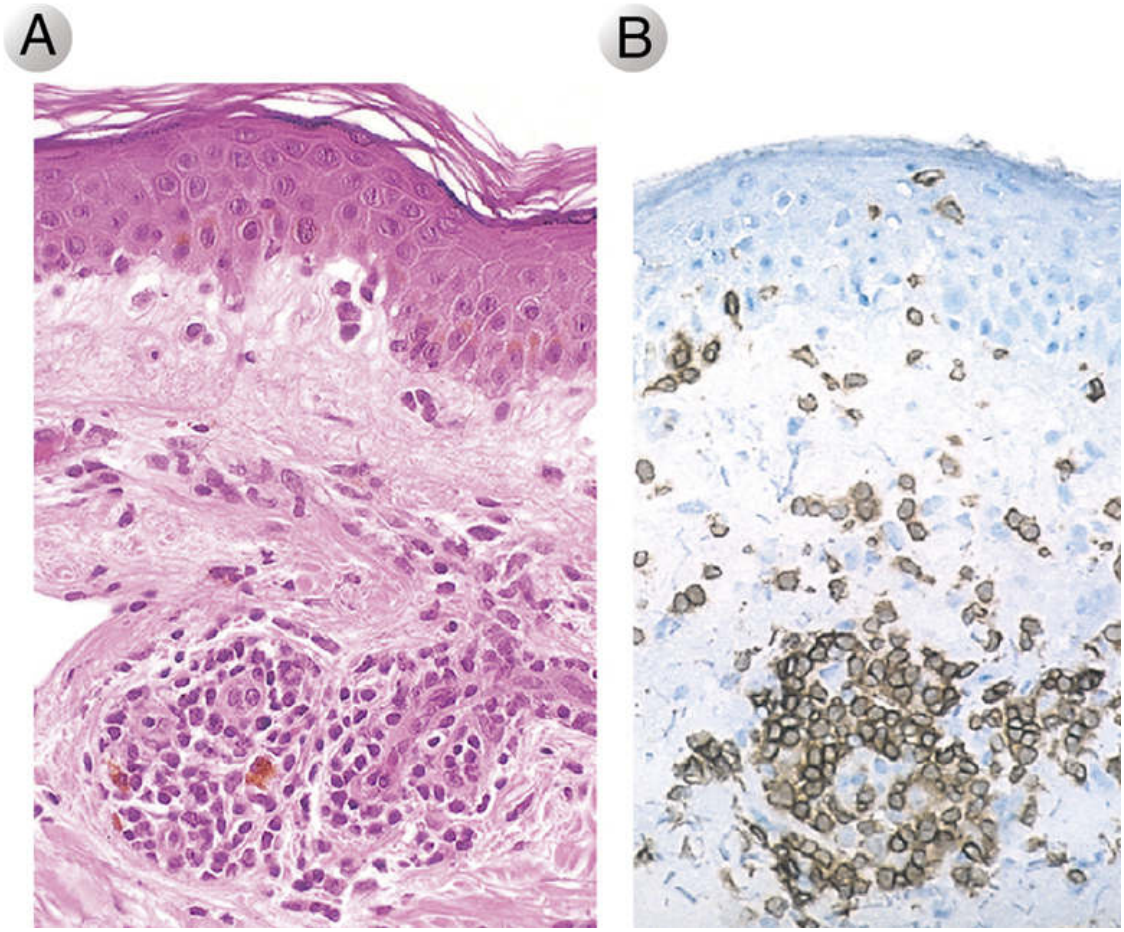


FIGURA 19.7 Morfologia de uma reação de hipersensibilidade do tipo tardio.
A, Exame histopatológico da reação cutânea ilustrada na Figura 19.6 mostra o infiltrado de células mononucleares perivasculares na derme. No maior aumento (não mostrado), o infiltrado observado consiste em linfócitos e macrófagos ativados ao redor dos pequenos vasos sanguíneos nos quais as células endoteliais também estão ativadas. **B,** Coloração imuno-histoquímica demonstra a presença de muitos linfócitos T $CD4^+$. (Cortesia do Dr. J. Faix, Department of Pathology, Stanford University School of Medicine, Palo Alto, California).

Embora a DTH tenha sido tradicionalmente considerada uma reação prejudicial Th1–mediada, outras células T podem contribuir para a inflamação. Em algumas lesões de DTH, os neutrófilos são proeminentes, sugerindo o envolvimento de células Th17. Em infecções por alguns parasitas helmínticos, as reações contra os ovos do parasita elicitam uma DTH com forte componente de eosinófilos. Nesses casos, foi demonstrado um papel para as citocinas Th2. As células T $CD8^+$ também produzem

IFN-γ e contribuem para as reações de DTH, especialmente na pele. De fato, nas reações de DTH cutâneas, como a hipersensibilidade de contato, a célula T dominante é frequemente da subpopulação $CD8^+$.

As reações crônicas de DTH podem se desenvolver se uma resposta Th1 a uma infecção ativar os macrófagos, mas falhar em eliminar os microrganismos fagocitados. Se os microrganismos estão localizados em uma área pequena, a reação produz nódulos de tecido inflamatório chamados granulomas (Fig. 19.8A). A DTH crônica, como exemplificada pela inflamação granulomatosa, é causada por sinais prolongados de citocinas (Fig. 19.8B). Nessas reações, as células T e os macrófagos ativados continuam a produzir citocinas e fatores de crescimento que amplificam as reações de ambos os tipos celulares e modificam progressivamente o ambiente local do tecido. O resultado é um ciclo de lesão tecidual e inflamação crônica, seguido por substituição por tecido conectivo (fibrose). Em reações crônicas de DTH, os macrófagos ativados também sofrem alterações em resposta a sinais persistentes de citocinas. Esses macrófagos desenvolvem citoplasma e organelas citoplasmáticas aumentados e, histologicamente, podem se assemelhar às células epiteliais cutâneas, motivo pelo qual são muitas vezes chamados células epitelioides. Os macrófagos ativados podem se fundir para formar as células gigantes multinucleadas. A inflamação granulomatosa é uma tentativa de conter a infecção, mas também é a causa de lesão tecidual significativa e prejuízo funcional. Esse tipo de inflamação é uma resposta característica de alguns microrganismos persistentes, como *M. tuberculosis* e alguns fungos. Grande parte da dificuldade respiratória associada à tuberculose ou à infecção fúngica crônica dos pulmões é causada pela substituição do tecido pulmonar normal por tecido fibrótico, não sendo diretamente atribuível aos microrganismos.

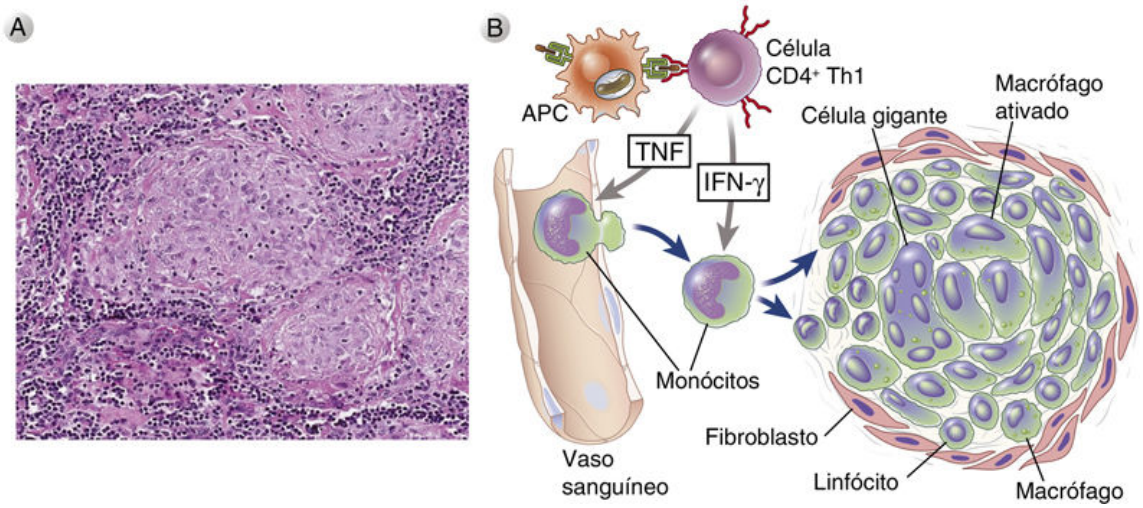


FIGURA 19.8 Inflamação granulomatosa.
A, Linfonodo de um paciente com tuberculose contendo granulomas com macrófagos ativados, células gigantes multinucleadas e linfócitos. Em alguns granulomas, pode existir uma área central de necrose (não mostrado). Estudos imuno-histoquímicos identicariam os linfócitos como sendo células T. **B,** Mecanismos de formação do granuloma. Citocinas estão envolvidas na geração de células Th1, ativação de macrófagos e recrutamento de leucócitos. As reações prolongadas desse tipo levam à formação de granulomas.

Doenças Causadas por Linfócitos T Citotóxicos

As respostas de CTLs à infecção viral podem levar à lesão tecidual em decorrência do* killing *de células infectadas, mesmo se o vírus por si só não induzir efeitos citopáticos. A principal função fisiológica dos CTLs é eliminar os microrganismos intracelulares, principalmente vírus, matando as células infectadas. Alguns vírus lesionam diretamente as células infectadas e são considerados citopáticos, ao passo que outros não o são. Como podem não ser capazes de distinguir entre os vírus citopáticos e não citopáticos, os CTLs matam células infectadas por vírus, independentemente se a infecção é em si prejudicial para o hospedeiro. Exemplos de infecções virais, nas quais as lesões são decorrentes da resposta de CTL do hospedeiro e não ao próprio vírus, incluem a coriomeningite linfocitária em camundongos e determinadas formas de hepatite viral em humanos (Capítulo 16).

Os CTLs podem contribuir para a lesão tecidual em doenças autoimunes nas quais a destruição de determinadas células hospedeiras é um componente importante, como acontece no diabetes tipo 1, onde as células β produtoras de insulina nas ilhotas pancreáticas são destruídas.

Abordagens Terapêuticas para as Doenças Imunológicas

Uma das realizações recentes mais impressionantes da Imunologia foi o desenvolvimento de novas terapias para imunopatologias com base no entendimento da ciência básica (Fig. 19.9). Essas terapias podem ser divididas em vários grupos abrangentes.

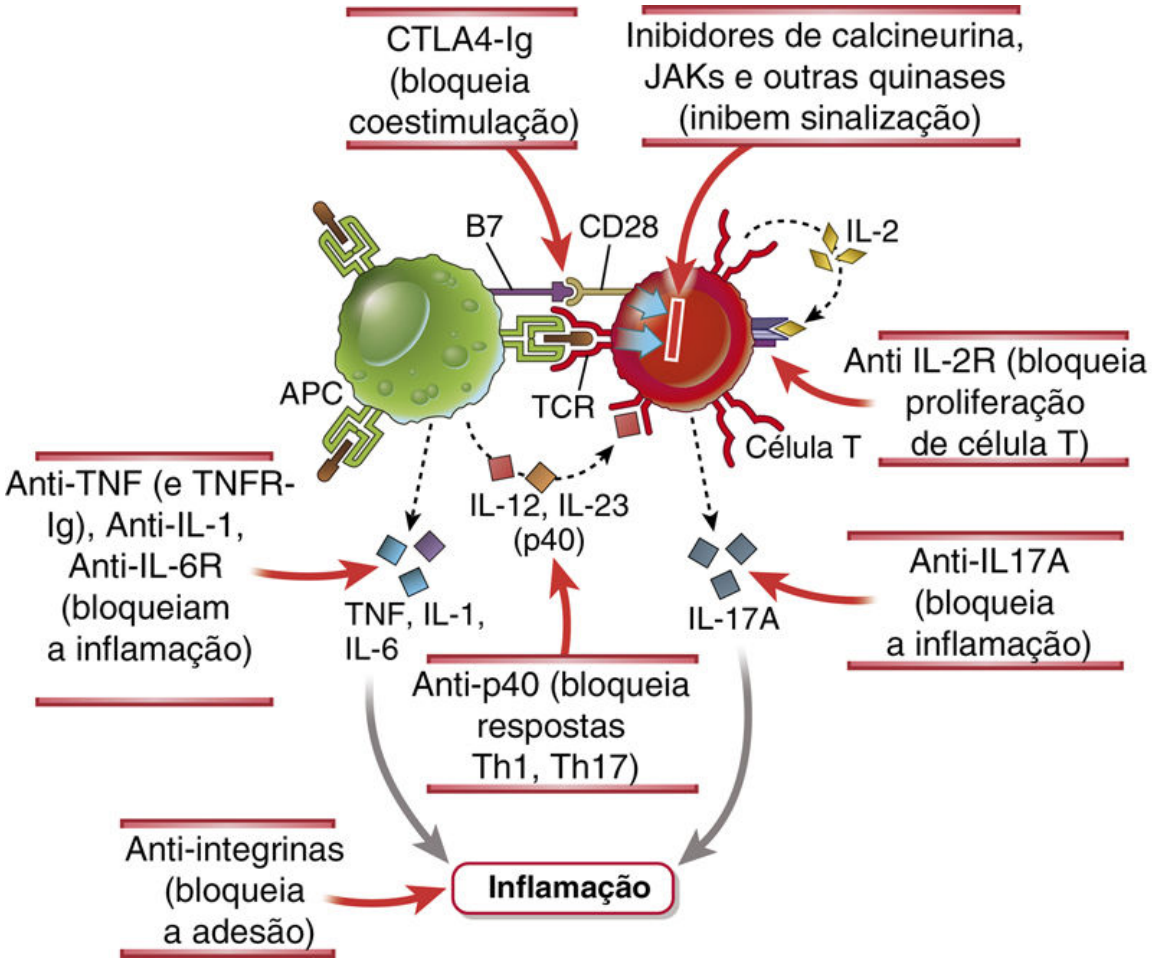


FIGURA 19.9 Novas terapias para doenças inflamatórias com alvo em respostas de células T.
Os locais de ação de alguns agentes terapêuticos que bloqueiam diferentes componentes das respostas imunes e inflamatórias estão ilustrados. Muitos desses agentes têm como alvo as citocinas e seus receptores. A depleção de células B por anticorpos anti-CD20 também pode reduzir as respostas patológicas de células T (*não mostrado*).

Agentes Anti-inflamatórios de Ação Ampla

Por muitos anos, a terapia de escolha para o tratamento das doenças de hipersensibilidade foi o uso de fármacos anti-inflamatórios, particularmente corticosteroides. Tais fármacos inibem a secreção de citocinas e de outros mediadores de inflamação e, assim, reduzem a inflamação associada às respostas imunes patológicas. Fármados anti-inflamatórios não esteroidais são comumente usados para reduzir reações inflamatórias leves.

Terapias Anticitocinas

Um grande número de citocinas e seus receptores envolvidos na inflamação têm sido alvos de antagonistas específicos para o tratamento de doenças inflamatórias crônicas mediadas por célula T (Tabela 19.5). O primeiro sucesso dessa classe de agentes biológicos veio com uma forma solúvel do receptor de TNF e anticorpos anti-TNF, que se ligam e neutralizam essa citocina. Esses agentes trazem grandes benefícios para muitos pacientes com artrite reumatoide, doença de Crohn e psoríase. Anticorpos contra o receptor da IL-6 foram utilizados com sucesso no tratamento da artrite juvenil e adulta. Antagonistas de outras citocinas pró-inflamatórias, tais como IL-1, a cadeia p40 presente na IL-12 e IL-23 e IL-17 estão agora aprovados para várias doenças inflamatórias e muitos outros estão passando por ensaios clínicos. Além desses agentes biológicos, pequenas moléculas inibidoras das JAK quinases (importantes mediadores de sinalização intracelular de uma variedade de receptores de citocinas; Capítulo 7) estão também aprovadas para inibir as ações das citocinas na artrite reumatoide.

Tabela 19.5

Exemplos de Antagonistas de Citocinas em Uso ou em Ensaios Clínicos

Citocina ou Receptor-alvo	Efeitos Biológicos Previstos do Antagonista	Indicações Clínicas
TNF	Inibe a migração leucocitária para os sítios de inflamação	Artrite reumatoide, psoríase, enteropatia inflamatória
IL-1	Inibe a migração de leucócitos para os sítios de inflamação	Síndromes autoinflamatórias raras, gota grave, artrite reumatóide
Receptor de IL-6	Inibe a inflamação, resposta de anticorpos?	Artrite juvenil idiopática, artrite reumatoide
IL-17	Inibe o recrutamento de leucócitos para os sítios de inflamação	Psoríase, possivelmente artrite reumatoide (ensaios clínicos em andamento)
Cadeia p-40 da IL-12 e IL-23	Inibe desenvolvimento de Th1 e Th17	Enteropatia inflamatória, psoríase
Receptor de IL-2 (CD25)	Inibe proliferação de células T mediada por IL-2	Rejeição aguda de enxerto
IFN-α	Pode ter múltiplos efeitos na diferenciação de Th1, produção de anticorpos	Lúpus eritematoso sistêmico
IL-4/IL-13	Inibe diferenciação e função de Th2, produção de IgE	Asma
BAFF	Reduz a sobrevida de linfócitos B	Lúpus eritematoso sistêmico

A tabela lista exemplos de antagonistas de citocinas (anticorpos ou receptores solúveis) aprovados para uso ou ensaios clínicos.

Anticorpos monoclonais específicos para cada alvo listado estão em uso clínico; antagonistas solúveis do receptor de TNF e do receptor de IL-1 também estão sendo usados.

IFN, Interferon; *IL*, interleucina; *TNF*, fator de necrose tumoral

Depleção de Células e de Anticorpos

Os anticorpos monoclonais que depletam todas as células linfoides, somente as células B ou somente as células T são utilizados para tratar doenças inflamatórias graves. No Capítulo 5, listamos alguns desses anticorpos usados na prática clínica (Tabela 5.3). Um desenvolvimento recente é o uso bem-sucedido do anticorpo anti-CD20 (rituximabe), que

depleta apenas células B, para o tratamento de doenças que se pensava serem causadas principalmente pela inflamação mediada por células T. Esse tratamento tem demonstrado eficácia em pacientes com artrite reumatoide e esclerose múltipla. A eficácia do anti-CD20 pode estar relacionada com um papel das células B como células apresentadoras de antígeno nas respostas de células T, especialmente para a geração e manutenção das células T de memória. A plasmaferese tem sido utilizada para eliminar autoanticorpos e imunocomplexos circulantes.

Outros Agentes Biológicos

CTLA-4-Ig, o agente que bloqueia coestimuladores B7 (Capítulo 9), está aprovado para o tratamento da artrite reumatoide e rejeição ao enxerto. Anticorpos contra integrinas têm sido usados para inibir migração de leucócitos para os tecidos, particularmente o sistema nervoso central (SNC) na esclerose múltipla. Anticorpos contra o CD40-ligante bloqueia a ativação de células B e macrófagos mediada por células T e tem sido benéfica em pacientes com esclerose múltipla e enteropatia inflamatória, mas alguns dos pacientes tratados desenvolveram complicações trombóticas, aparentemente porque essa molécula é expressa em plaquetas humanas (onde sua função é desconhecida).

IgG Intravenosa

A administração de uma mistura de IgG obtida de doadores saudáveis (IVIG, do inglês, *intravenous immunoglobulin*) apresenta efeitos benéficos em algumas doenças autoimunes como a trombocitopenia imune e a anemia hemolítica. Não está claro como essa preparação, que contém IgG de muitas especificidades desconhecidas, suprime a inflamação imune. Uma possibilidade é que a IgG se ligue ao receptor Fc de inibição (FcγRIIB) em linfócitos B (Capítulo 12) e células dendríticas, e assim atenua a produção de autoanticorpos e as respostas inflamatórias. A IVIG também pode competir com os anticorpos patogênicos para a ligação ao receptor Fc neonatal (FcRn), que funciona em adultos para proteger os anticorpos do catabolismo (Capítulo 5), resultando na redução da meia-vida dos anticorpos patogênicos.

Terapias Indutoras de Tolerância

Há tentativas em andamento de desenvolvimento de tratamentos mais específicos, como a indução de tolerância em células T produtoras de

doença. A esclerose múltipla e o diabetes tipo 1 são duas doenças imunes nas quais os antígenos-alvo foram definidos; em ambas as doenças, estudos clínicos estão em curso e se baseiam na administração de antígenos (peptídeos de proteína básica de mielina e de insulina, respectivamente) aos pacientes de forma a inibir os linfócitos específicos para esses antígenos. Um risco de muitos tratamentos que bloqueiam vários componentes do sistema imune é a interferência na função normal do sistema imunológico no combate a microrganismos e, portanto, a possibilidade de tornar os indivíduos suscetíveis a infecções. A tolerância antígeno-específica evita esse problema ao afetar seletivamente os linfócitos causadores da doença.

Recentemente, também tem havido grande interesse em explorar o conhecimento sobre células T reguladoras (Tregs) para tratar doenças inflamatórias. Numerosos ensaios clínicos estão em andamento para purificar as Tregs dos pacientes, expandi-las e ativá-las em cultura, e transferi-las de volta para os pacientes. Uma outra abordagem é tratar pacientes com baixas doses de IL-2, cuja expectativa é ativar e manter as Tregs em detrimento das células efetoras, ou com uma IL-2 mutada, para ligar preferencialmente ao CD25, a cadeia do receptor de IL-2 que é expressa em níveis altos e constantes nas Tregs.

Doenças Imunológicas Selecionadas: Patogênese e Estratégias Terapêuticas

Na seção a seguir, descreveremos a patogênese de doenças selecionadas causadas por anticorpos e células T, além da aplicação de novas terapias para essas doenças. O objetivo da discussão não é apresentar os detalhes clínicos, mas salientar como as doenças ilustram os princípios subjacentes das reações imunes anormais.

Lúpus Eritematoso Sistêmico (LES): O Protótipo de Doença Mediada por Imunocomplexo

O LES é uma doença autoimune crônica multissistêmica, remitente e recidivante, que afeta predominantemente mulheres, com incidência nos Estados Unidos de 1 em 700 mulheres entre 20 e 60 anos de idade (cerca de 1 em 250 entre as mulheres negras) e uma relação de 10:1 entre mulheres e homens. As principais manifestações clínicas incluem erupções cutâneas, artrite e glomerulonefrite, mas anemia hemolítica, trombocitopenia e envolvimento do SNC também são comuns. Muitos autoanticorpos diferentes são encontrados em pacientes com LES. Os mais frequentes são os anticorpos antinucleares, particularmente anti-DNA; outros incluem anticorpos contra ribonucleoproteínas, histonas e antígenos dos nucléolos. Os imunocomplexos formados a partir desses autoanticorpos e seus antígenos específicos se depositam em pequenas artérias e capilares em todo o corpo e são responsáveis por glomerulonefrite, artrite e vasculite. A anemia hemolítica e a trombocitopenia são causadas por autoanticorpos contra eritrócitos e plaquetas, respectivamente. O principal teste diagnóstico para a doença é a presença de anticorpos antinucleares; os anticorpos contra o DNA nativo de fita dupla são específicos para o LES.

Patogênese do Lúpus Eritematoso Sistêmico

O LES é uma doença complexa e incompletamente entendida, na qual fatores genéticos e ambientais contribuem para a quebra da tolerância de linfócitos B e T autorreativos. Entre os fatores genéticos, está a herança de determinados alelos do HLA. A probabilidade (risco relativo) de indivíduos portadores do HLA-DR2 ou HLA- DR3 é de 2 a 3 e, se ambos os haplótipos estiverem presentes, de aproximadamente 5. As deficiências

genéticas de proteínas da via clássica do complemento, especialmente C1q, C2 ou C4, são obsevadas em cerca de 5% dos pacientes com LES. As deficiências do complemento podem resultar na remoção defeituosa de imunocomplexos e de células apoptóticas e na falha da tolerância de células B. Um polimorfismo no receptor Fc de inibição, FcγRIIB, foi descrito em alguns pacientes; isso pode contribuir para o controle inadequado da ativação de células B ou para uma falha em atenuar as respostas inflamatórias em células imunes inatas. Muitos outros genes foram detectados por estudos de associação genômica ampla e o papel de alguns desses genes, como o da fosfatase PTPN22, foi considerado no Capítulo 15. Os fatores ambientais incluem a exposição à luz ultravioleta (UV) e postula-se que isso leva à morte apoptótica das células e liberação de antígenos nucleares.

Duas observações geraram novas hipóteses sobre a patogênese do LES. Primeiro, os estudos em pacientes revelaram que as células sanguíneas exibem uma assinatura molecular marcante (padrão de expressão gênica) que indica exposição ao IFN-α, um interferon do tipo I produzido principalmente por células dendríticas plasmacitoides. Alguns estudos mostraram que as células dendríticas plasmacitoides de pacientes com LES também produzem quantidades anormalmente altas de IFN-α. Segundo, estudos em modelos animais mostraram que os receptores do tipo *Toll* (TLRs, do inglês, *Toll-like receptors*), particularmente o TLR9 e o TLR7, que reconhecem DNA e RNA, respectivamente, desempenham um papel na ativação de células B específicas para os autoantígenos nucleares. Com base nesses estudos, foi proposto um modelo para a patogênese do LES (Fig. 19.10). De acordo com esse modelo, a radiação UV e outros insultos ambientais induzem apoptose de células. A remoção inadequada dos núcleos dessas células, em parte decorrentes de defeitos nos mecanismos de eliminação, como proteínas do complemento e nucleases como a TREX1, resulta em grande carga de antígenos nucleares. Polimorfismos em diversos genes de suscetibilidade para o LES levam ao defeito na capacidade de manter a autotolerância em linfócitos B e T, motivo pelo qual os linfócitos autorreativos permanecem funcionais. A falha na tolerância das células B pode ser decorrente de defeitos na edição do receptor ou na deleção de células B imaturas na medula óssea, ou ainda, na tolerância periférica. As células B autorreativas que não se tornam tolerantes são estimuladas por autoantígenos nucleares, e anticorpos são produzidos contra esses antígenos. Os complexos antígeno-anticorpo ligam-se a receptores Fc em células dendríticas e ao receptor antigênico de células B, e podem ser internalizados em endossomos. Os componentes de

ácidos nucleicos ligam-se aos TLRs endossomais e estimulam as células B a produzirem mais autoanticorpos, além de ativar as células dendríticas, particularmente as plasmacitoides, a produzirem IFN-α, que aumenta ainda mais a resposta imune e pode provocar mais apoptose. O resultado líquido é um ciclo de liberação de antígenos e imunoativação que leva à produção de autoanticorpos de alta afinidade.

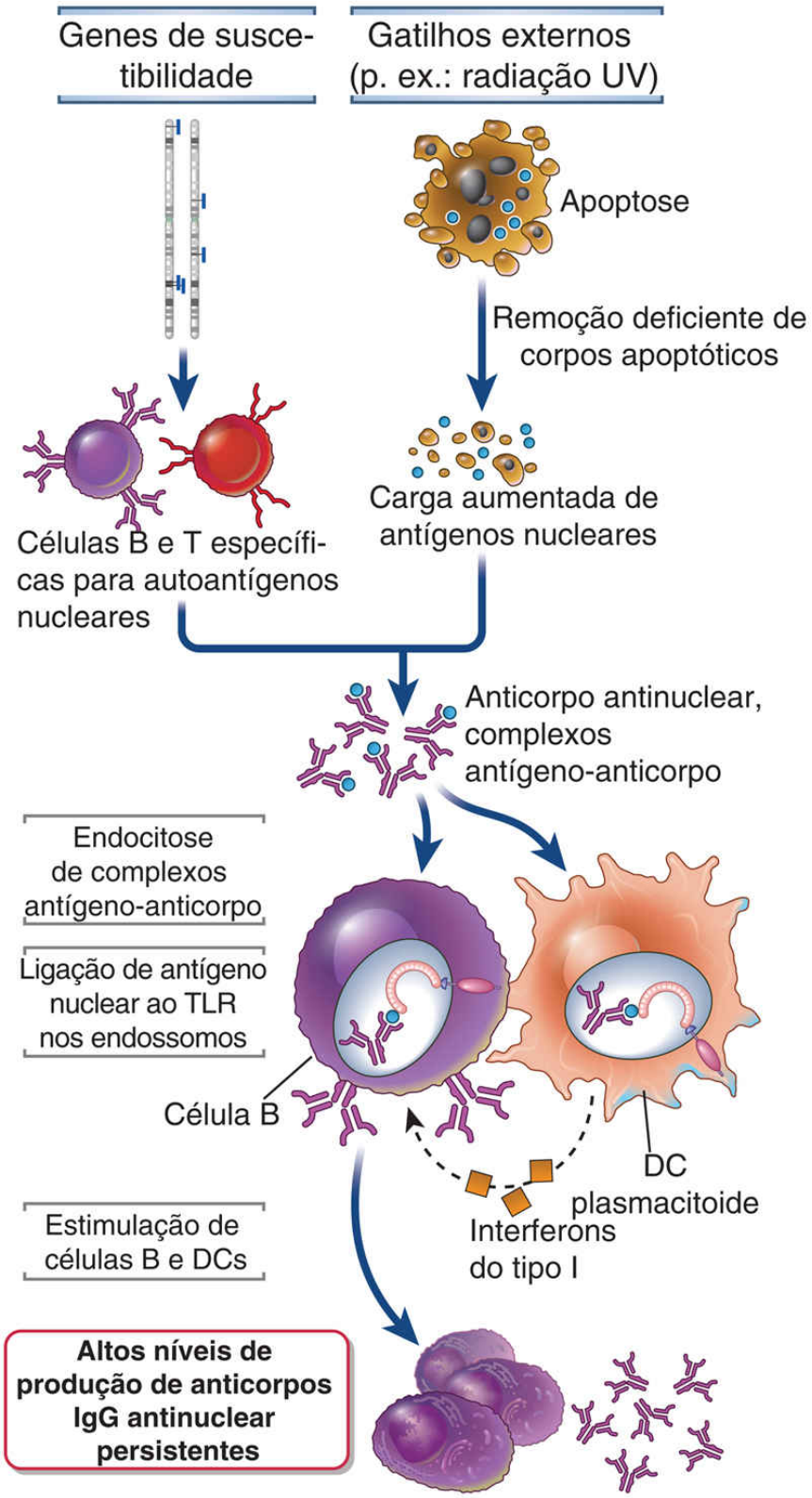


FIGURA 19.10 Um modelo para a patogenia do lúpus eritematoso sistêmico.
Nesse modelo hipotético, diversos genes de suscetibilidade

interferem na manutenção da autotolerância e gatilhos externos levam à persistência dos antígenos nucleares. O resultado é uma resposta de anticorpos contra autoantígenos nucleares, amplificada pela ativação de células dendríticas e células B dependente de TLR por ácidos nucleicos, além da produção de interferons do tipo I.

Novas Terapias para o Lúpus Eritematoso Sistêmico

Os recentes avanços em nossa compreensão do LES têm levado a novas abordagens terapêuticas. Ensaios clínicos estão em andamento no sentido de testar a eficácia de anticorpos contra o IFN-α ou seu receptor na doença, e tentativas de inibição dos sinais desencadeados pelos TLRs estão sendo consideradas. Tem havido grande interesse na depleção de células B por meio da utilização de um anticorpo contra CD20, uma proteína de superfície dessas células. Um anticorpo que bloqueia BAFF, um fator de crescimento de células B, foi recentemente aprovado para o tratamento de LES, embora pareça ter eficácia modesta. Os ensaios clínicos envolvendo depleção de células B utilizando anticorpos anti-CD20 têm apresentado sucesso limitado. Abordagens adicionais incluem a depleção combinada de células B e de plasmócitos de longa vida usando inibidores do proteassomo (o que leva à acumulação de proteínas mal dobradas e, consequentemente, morte celular).

Artrite Reumatoide

A artrite reumatoide é uma doença inflamatória que envolve pequenas e grandes articulações das extremidades, incluindo dedos das mãos e pés, punhos, ombros, joelhos e tornozelos. A doença é caracterizada por inflamação da sinóvia associada à destruição da cartilagem articular e óssea, com uma aparência morfológica indicativa de uma resposta imune local. Ambas as respostas imunes, humoral e mediada por células, podem contribuir para o desenvolvimento de sinovite. Células $CD4^+$ Th1 e Th17, linfócitos B ativados, plasmócitos e macrófagos, bem como outras células inflamatórias são encontradas na sinóvia inflamada. Em casos graves, folículos linfoides bem formados com centros germinativos (os chamados órgãos linfoides terciários) podem estar presentes. Inúmeras citocinas, incluindo IL-1, IL-8, TNF, IL-6, IL-17 e IFN-γ, foram detectadas no líquido sinovial (articular). Acredita-se que as citocinas recrutem leucócitos, cujos produtos causam lesão tecidual, e também estimulem células sinoviais residentes a produzirem enzimas proteolíticas, tais como a colagenase, que

medeiam a destruição da cartilagem, ligamentos e tendões das articulações. A atividade aumentada dos osteoclastos nas articulações contribui para a destruição óssea na artrite reumatoide e isso pode ser causado pela produção do ligante do receptor ativador do fator nuclear κB (RANK, do inglês, *receptor activator of nuclear factor κB*), uma citocina da família do TNF, por células T ativadas. O ligante de RANK liga-se a RANK, um membro da família do receptor de TNF, expresso em precursores de osteoclastos, induzindo sua diferenciação e ativação. Complicações sistêmicas da artrite reumatoide incluem vasculite, presumivelmente causada por imunocomplexos, e lesão pulmonar.

Embora muito da ênfase nos estudos da artrite reumatoide tenha sido sobre o papel das células T, os anticorpos também podem contribuir para a destruição da articulação. As células B ativadas e os plasmócitos estão frequentemente presentes na sinóvia das articulações afetadas. Os pacientes frequentemente apresentam anticorpos circulantes IgM ou IgG que reagem com as porções Fc (e raramente Fab) de suas próprias moléculas de IgG. Esses autoanticorpos são denominados fatores reumatoides e sua presença é utilizada como um teste diagnóstico para a artrite reumatoide. Os fatores reumatoides podem participar da formação de imunocomplexos prejudiciais, mas seu papel patogênico ainda não está estabelecido. Outro tipo de anticorpo detectado em pelo menos 70% dos pacientes é específico para peptídeos cíclicos citrulinados (CCP, do inglês, *cyclic citrullinated peptides*), que são derivados de determinadas proteínas modificadas em um ambiente inflamatório pela conversão enzimática de resíduos de arginina em citrulina. Esses anticorpos anti-CCP representam um marcador diagnóstico para a doença e podem estar envolvidos na lesão tecidual.

Patogênese da Artrite Reumatoide

Como outras doenças autoimunes, a artrite reumatoide é uma doença complexa, na qual fatores genéticos e ambientais contribuem para a quebra de tolerância a autoantígenos. A especificidade das células B e T patogênicas permanece desconhecida, embora tenham sido identificadas células B e T que reconhecem peptídeos citrulinados. A suscetibilidade à artrite reumatoide está ligada ao haplótipo HLA-DR4 e a outros poucos alelos de HLA-DR, onde todos compartilham um segmento de 5 resíduos (chamado epítopo compartilhado) na fenda de ligação ao peptídeo. Recentes estudos de associação genômica ampla revelaram um grande número de polimorfismos genéticos associados à artrite reumatoide,

incluindo o gene que codifica uma tirosina fosfatase, PTPN22, discutida no Capítulo 15.

A identificação de respostas imunes anti-CCP levou a novas teorias sobre a patogênese da artrite reumatoide (Fig. 19.11). De acordo com um dos modelos, agressões ambientais, como tabagismo e algumas infecções, induzem a citrulinação de proteínas próprias, levando à criação de novos epítopos antigênicos. Como esses epítopos quimicamente modificados são neoantígenos que não estão normalmente presentes no organismo, não existe tolerância a esses antígenos. Os indivíduos portadores de alelos de HLA capazes de apresentar esses epítopos podem montar respostas de células T e de anticorpos contra as proteínas. Se essas proteínas próprias modificadas também estiverem presentes nas articulações, as células T e os anticorpos atacarão as articulações. Células Th17, e talvez Th1, secretam citocinas que recrutam leucócitos para a articulação e ativam células sinoviais para produzir colagenases e outras enzimas. O resultado líquido é a destruição progressiva da cartilagem e do osso. As respostas imunes crônicas nas articulações podem levar à formação de tecidos linfoides terciários na sinóvia, que podem manter e propagar a reação inflamatória local.

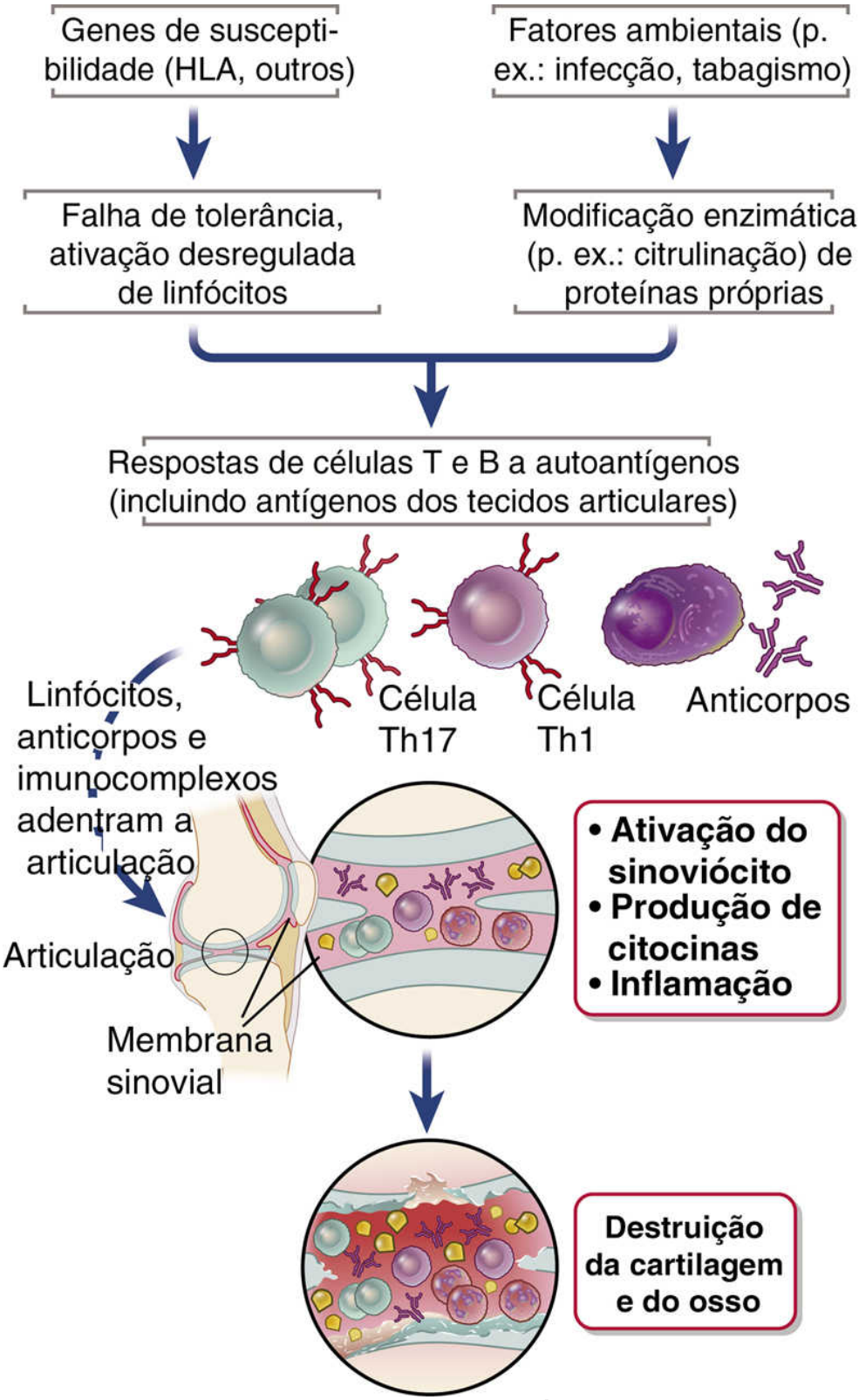


FIGURA 19.11 Um modelo para a patogênese da artrite reumatoide.
De acordo com esse modelo, as proteínas citrulinadas induzidas por

estímulos ambientais elicitam respostas de células T e de anticorpos em indivíduos geneticamente suscetíveis. As células T e os anticorpos entram nas articulações, respondem a proteínas próprias e causam lesão tecidual principalmente pela secreção de citocinas e, possivelmente, também por mecanismos efetores dependentes de anticorpos. Outras modificações de proteínas além da citrulinação podem levar ao mesmo resultado.

Novas Terapias para a Artrite Reumatoide

A percepção do papel central das células T e das citocinas na doença tem levado a avanços notáveis em termos de tratamento, sendo que moléculas específicas têm sido escolhidas como alvo, com base no conhecimento científico. A principal entre essas novas terapias são os antagonistas de TNF, que transformaram o curso da doença, em muitos pacientes, de uma destruição progressiva e inexorável das articulações para uma inflamação crônica latente, porém tratável. Várias outras terapias com alvos definidos foram desenvolvidas nos últimos 5-10 anos, proporcionando maior compreensão sobre a patogênese da doença. O bloqueio de outras citocinas além do TNF vem se mostrando eficaz, incluindo um anticorpo que bloqueia o receptor de IL-6, um antagonista de IL-1 e uma pequena molécula que inibe a sinalização de JAK. A inibição da ativação de células T tem sido realizada pelo bloqueio da coestimulação de B7:CD28 com CTLA-4-Ig, uma proteína de fusão que se liga a B7, composta do domínio extracelular de CTLA-4 e da porção Fc da IgG (Capítulo 9). A depleção de células B com anticorpo anti-CD20 também se provou eficaz, embora os mecanismos subjacentes a esse efeito não estejam bem compreendidos.

Esclerose Múltipla

A esclerose múltipla é uma doença autoimune do SNC, na qual as células T $CD4^+$ das subpopulações Th1 e Th17 reagem contra autoantígenos de mielina, resultando em inflamação com ativação de macrófagos ao redor dos nervos no cérebro e na medula espinhal, destruição da mielina, anormalidades na condução nervosa e deficit neurológicos. É a doença neurológica mais comum de adultos jovens. O exame patológico revela inflamação na substância branca do SNC e desmielinização. A esclerose múltipla é caracterizada clinicamente por fraqueza, paralisia e sintomas oculares com exacerbações e remissões; o imageamento do SNC sugere que em pacientes com doença ativa, há formação frequente de novas lesões.

A encefalomielite autoimune experimental (EAE), desenvolvida em camundongos, ratos, cobaias e primatas não humanos, é um dos modelos experimentais mais bem caracterizados de uma doença autoimune órgão-específica mediada principalmente por linfócitos T. A EAE é induzida pela imunização de animais com antígenos normalmente presentes na mielina do SNC, tais como a proteína básica da mielina (MBP, do inglês, *myelin basic protein*), a proteína proteolipídica e a glicoproteína da mielina do oligodendrócito, administrados na presença de um adjuvante contendo micobactérias mortas pelo calor, condição necessária para elicitar uma forte resposta de células T. Cerca de 1 a 2 semanas após a imunização, os animais desenvolvem encefalomielite, caracterizada por infiltrados perivasculares de linfócitos e macrófagos na substância branca do SNC, seguida por desmielinização. As lesões neurológicas podem ser leves e autolimitadas ou crônicas e reincidentes. Essas lesões resultam em paralisia progressiva ou com remissão e recidiva. A doença também pode ser transferida para animais *naive* pelas células T dos animais doentes. Embora os anticorpos contra os antígenos da mielina sejam detectados em pacientes e em modelos animais, o significado patogênico desses anticorpos não está estabelecido.

Patogênese da Esclerose Múltipla

Há evidências abundantes de que a EAE é causada por células $CD4^+$ Th1 e Th17 ativadas e específicas para antígenos proteicos da mielina. Por analogia com a doença experimental, acredita-se que a esclerose múltipla também seja causada por células Th1 e Th17 mielina-específicas, e essas células foram detectadas em pacientes e isoladas a partir do sangue e do SNC. Como essas células são ativadas em pacientes permanece um enigma. Uma teoria é que uma infecção, muito provavelmente viral, ative as células T reativas à mielina própria pelo fenômeno de mimetismo molecular (Capítulo 15). A autotolerância pode falhar por causa da herança de genes de suscetibilidade. Gêmeos idênticos possuem uma taxa de concordância de 25 a 30% para o desenvolvimento da esclerose múltipla, ao passo que gêmeos não idênticos têm uma taxa de concordância de 6%. Essas observações implicam fatores genéticos no desenvolvimento da doença, mas também indicam que a genética deve contribuir com parte do risco apenas. Os polimorfismos genéticos associados à esclerose múltipla incluem o *locus* HLA, com o alelo HLA-DRB1*1501 apresentando a ligação mais forte. Estudos de associação genômica ampla e outras análises genômicas revelaram mais de 100

variantes genéticas que contribuem para o risco da doença; a maioria dessas variações são mapeadas em genes envolvidos na função imune. Uma associação interessante ocorre com um polimorfismo na região não codificadora do gene para a cadeia α do receptor de IL-2, CD25. Esse polimorfismo pode alterar a geração e a manutenção de células T efetoras e/ou reguladoras (Tregs). Outros estudos sugeriram que a manutenção periférica de células Tregs é defeituosa em pacientes com esclerose múltipla, mas não se sabe quanto isso contribui para uma falha da autotolerância. Uma vez ativadas, as células mielina-específicas migram para o SNC, onde encontram as proteínas da mielina e liberam citocinas que recrutam e ativam macrófagos e mais células T, levando à destruição da mielina. Estudos no modelo de EAE sugerem que a doença é propagada por um processo conhecido como **espalhamento de epítopos** (Capítulo 15). A ruptura do tecido resulta na liberação de novos antígenos proteicos e expressão de novos epítopos, previamente sequestrados, que ativam mais células T autorreativas.

Novas Terapias para Esclerose Múltipla

No passado, a imunoterapia para a esclerose múltipla dependeu de abordagens cuja base científica não era bem compreendida. Essas incluem a administração de IFN-β, que pode alterar as respostas de citocinas, e o tratamento com um polímero aleatório de quatro aminoácidos, o qual postula-se que se ligue a moléculas de HLA e bloqueie a apresentação antigênica. Entretanto, recentemente, foram desenvolvidas diversas terapias novas com modificadores imunológicos baseadas em princípios racionais. Uma delas é um anticorpo contra a integrina VLA-4 (Capítulo 3), que bloqueia a migração de leucócitos para o SNC e se mostrou benéfico para os pacientes. No entanto, em um pequeno número de pacientes, esse tratamento resultou na reativação de uma infecção latente do vírus JC, causando uma doença do SNC grave e por vezes fatal. Outro fármaco recentemente aprovado para tratar a esclerose múltipla também interfere na migração de leucócitos. O fármaco, chamado fingolimode (FTY720), bloqueia a via mediada pela esfingosina 1-fosfato da célula T egressa de tecidos linfoides (Capítulo 3). Em um grande subgrupo de pacientes, a depleção de células B com anticorpo anti-CD20 é benéfica. Esses resultados sugerem um papel importante das células B, presumivelmente como APCs, na ativação de células T patogênicas. Como a MBP é conhecida por ser um importante autoantígeno-alvo da resposta imune na esclerose múltipla, há esperança de que a administração de

peptídeos da MBP poderá induzir tolerância antígeno-específica ou gerar Tregs específicas para o antígeno relevante, e os ensaios clínicos iniciais são promissores. É também surpreendente que a maioria das terapias sejam mais eficazes na esclerose múltipla inicial, caracterizada pela inflamação; do que na esclerose múltipla progressiva, caracterizada pela neurodegeneração e que representa a maior causa de invalidez permanente. Essa percepção está direcionando a novas tentativas de se restaurar a mielinização e reparar os axônios e neurônios danificados.

Diabetes Tipo 1

O diabetes tipo 1, anteriormente chamado diabetes insulino-dependente, é uma doença metabólica multissistêmica resultante da produção deficiente de insulina que afeta aproximadamente 0,2% da população dos Estados Unidos, com um pico no início dos 11 a 12 anos de idade. A incidência da doença parece estar aumentando na América do Norte e na Europa. A doença é caracterizada por hiperglicemia e cetoacidose. As complicações crônicas do diabetes incluem aterosclerose progressiva das artérias, o que pode levar à necrose isquêmica dos membros e órgãos internos, e obstrução microvascular causando danos na retina, nos glomérulos renais e nos nervos periféricos. O diabetes tipo 1 é causado por uma deficiência de insulina resultante da destruição imunomediada das células β produtoras de insulina das ilhotas de Langerhans no pâncreas, sendo necessária uma terapia de reposição hormonal contínua. Geralmente, existe um longo período de muitos anos entre o início da autoimunidade e a manifestação da doença clínica, porque 90% ou mais das ilhotas precisam ser destruídas antes que as manifestações clínicas sejam observadas.

Patogenia do Diabetes Tipo 1

Vários mecanismos podem contribuir para destruição das células β, incluindo a inflamação mediada por células $CD4^+$ Th1 reativas aos antígenos das ilhotas (incluindo a insulina), lise de células das ilhotas mediada por CTL, produção local de citocinas (TNF e IL-1) que danificam as células das ilhotas e autoanticorpos contra as células das ilhotas. Nos poucos casos em que as lesões pancreáticas foram examinadas nas fases ativas iniciais da doença, as ilhotas exibiram necrose celular e infiltração linfocitária consistindo em células T $CD4^+$ e $CD8^+$. Essa lesão é denominada insulite. Os autoanticorpos contra as células das ilhotas e a insulina também são detectados no sangue desses pacientes. Em crianças

suscetíveis que não desenvolveram diabetes (tais como parentes de pacientes), a presença de anticorpos contra as células das ilhotas é preditiva do desenvolvimento do diabetes tipo 1. Um modelo animal informativo da doença é o camundongo diabético não obeso (NOD, do inglês, *nonobese diabetic*), que desenvolve diabetes espontaneamente. Nesse modelo, há evidência de sobrevivência e função defeituosas das Tregs, bem como resistência de células T efetoras à supressão por Tregs. Outra ideia interessante que tem surgido com base no modelo murino é a modificação pós-traducional dos antígenos das ilhotas, podendo levar à criação de novos epítopos que elicitam respostas imunes, semelhante aos neoantígenos na artrite reumatoide, previamente discutida.

Múltiplos genes estão associados ao diabetes tipo 1. Muita atenção tem sido direcionada ao papel dos genes do HLA. Entre 90 e 95% dos caucasianos com diabetes tipo 1 são portadores dos alelos HLA-DR3 ou DR4, ou de ambos, em contraste com aproximadamente 40% dos indivíduos normais. Além disso, 40 a 50% dos pacientes são heterozigotos para DR3/DR4, em contraste com 5% dos indivíduos normais. Diversos genes não HLA também contribuem para a doença. O primeiro desses genes a ser identificado é o da insulina, sendo que as repetições em tandem da região promotora estão associadas com a suscetibilidade à doença. O mecanismo dessa associação é desconhecido e pode estar relacionado ao nível de expressão de insulina no timo, que determina o quanto as células T insulino-específicas serão deletadas (selecionadas negativamente) durante a maturação. Vários outros polimorfismos foram identificados em pacientes e em camundongos NOD, incluindo nos genes *IL2* e *CD25*. Diferentes polimorfismos nesses genes podem aumentar ou diminuir o risco de desenvolvimento da doença, porém não está totalmente estabelecido como esses polimorfismos afetam as respostas de células T. Alguns estudos sugerem que infecções virais (p. ex.: com vírus Coxsackie B4) podem preceder o aparecimento do diabetes tipo 1, talvez por iniciarem a lesão celular, induzindo inflamação e expressão do coestimuladores, e desencadeando uma resposta autoimune. Entretanto, dados epidemiológicos sugerem que infecções repetidas protegem contra o diabetes tipo 1, sendo que isso ocorre de maneira semelhante no modelo NOD. De fato, foi postulado que uma das razões para o aumento da incidência de diabetes tipo 1 em países desenvolvidos é o controle das doenças infecciosas.

Novas Terapias para o Diabetes Tipo 1

As novas estratégias terapêuticas mais interessantes para o diabetes tipo 1 concentram-se na indução de tolerância com peptídeos diabetogênicos derivados de antígenos das ilhotas (como a insulina) e na geração ou administração de Tregs aos pacientes. Esses ensaios clínicos estão em estágio inicial.

Enteropatia Inflamatória

A enteropatia inflamatória consiste em dois distúrbios, a doença de Crohn e a colite ulcerativa, nas quais a inflamação mediada por células T causa a lesão intestinal. A doença de Crohn é caracterizada pela inflamação crônica e destruição da parede intestinal, com formação frequente de fístulas. Na colite ulcerativa, as lesões são essencialmente limitadas à mucosa e consistem em úlceras com focos subjacentes de inflamação. A patogênese da enteropatia inflamatória foi descrita no Capítulo 14. As novas terapias para essas doenças incluem anticorpos contra TNF, a cadeia p40 de IL-12 e IL-23, e as integrinas.

Resumo

- Distúrbios causados por respostas imunes anormais são chamados doenças de hipersensibilidade. As respostas imunes patológicas podem ser respostas autoimunes dirigidas contra antígenos próprios ou respostas descontroladas e excessivas a antígenos estranhos (p. ex.: microbianos).
- As doenças de hipersensibilidade podem resultar de anticorpos que se ligam a células ou tecidos (hipersensibilidade do tipo tipo II), imunocomplexos circulantes que são depositados nos tecidos (tipo III) ou de linfócitos T reativos aos antígenos teciduais (tipo IV). As reações de hipersensibilidade imediata (tipo I) são a causa das doenças alérgicas e estão descritas no Capítulo 20.
- Os mecanismos efetores da lesão tecidual mediada por anticorpos são a ativação do complemento e a inflamação mediada pelo receptor Fc. Alguns anticorpos causam doença por opsonizar células do hospedeiro para fagocitose ou por interferir nas funções celulares normais, sem produzir lesão tecidual.
- Os mecanismos efetores da lesão tecidual mediada por células T são as reações inflamatórias induzidas por citocinas secretadas principalmente por células $CD4^+$ Th1 e Th17 e a lise celular por CTLs. A reação clássica mediada pela célula T é a hipersensibilidade tardia, induzida pela ativação de células T previamente primadas e pela produção de citocinas que recrutam e ativam vários leucócitos, principalmente os macrófagos.
- O tratamento atual das doenças autoimunes objetiva reduzir a ativação imune e as consequências nocivas da reação autoimune. Os agentes incluem aqueles que bloqueiam a inflamação, tais como anticorpos contra citocinas e integrinas, e aqueles que bloqueiam a ativação de linfócitos ou os destroem. Um objetivo futuro da terapia é inibir as respostas de linfócitos específicos para antígenos próprios e induzir a tolerância dessas células.
- As doenças autoimunes, tais como LES, artrite reumatoide, esclerose múltipla e diabetes tipo 1 ilustram muitos dos mecanismos efetores que causam lesão tecidual em reações de hipersensibilidade e os papéis dos genes de suscetibilidade e fatores ambientais no desenvolvimento da autoimunidade.

Referências Sugeridas

Geral

Faurschou M, Jayne DR. Anti-B cell antibody therapies for inflammatory rheumatic diseases. *Annu Rev Med*. 2014;65:263–278.

Kim SJ, Diamond B. Modulation of tolerogenic dendritic cells and autoimmunity. *Semin Cell Dev Biol*. 2015;41:49–58.

Lenardo M, Lo B, Lucas CL. Genomics of immune diseases and new therapies. *Annu Rev Immunol*. 2016;34:121–149.

Rosen A, Casciola-Rosen L. Autoantigens as partners in initiation and propagation of autoimmune rheumatic diseases. *Annu Rev Immunol*. 2016;34:395–420.

Doenças Mediadas por Anticorpos e Imunocomplexos

Jancar S, Sanchez Crespo M. Immune complex-mediated tissue injury: a multistep paradigm. *Trends Immunol*. 2005;26:48–55.

Muñoz LE, Lauber K, Schiller M, et al. The role of defective clearance of apoptotic cells in systemic autoimmunity. *Nat Rev Rheumatol*. 2010;6:280–289.

Doenças Mediadas por Células T

Gutcher I, Becher B. APC-derived cytokines and T cell polarization in autoimmune inflammation. *J Clin Invest*. 2007;117:1119–1127.

Joosten LA, Abdollahi-Roodsaz S, Dinarello CA, et al. Toll-like receptors and chronic inflammation in rheumatic diseases: new developments. *Nat Rev Rheumatol*. 2016;12:344–357.

O'Shea JJ, Schwartz DM, Villarino AV, et al. The JAK-STAT pathway: impact on human disease and therapeutic intervention. *Annu Rev Med*. 2015;66:311–328.

Palmer MT, Weaver CT. Autoimmunity: increasing suspects in the $CD4^+$ T cell lineup. *Nat Immunol*. 2010;11:36–40.

Pavlos R, Mallal S, Ostrov D, et al. T cell-mediated hypersensitivity reactions to drugs. *Annu Rev Med*. 2015;66:439–454.

Teng MW, Bowman EP, McElwee JJ, et al. IL-12 and IL-23 cytokines: from discovery to targeted therapies for immune-mediated inflammatory

diseases. *Nat Med*. 2015;21:719–729.

Zhang Q, Vignali DA. Co-stimulatory and co-inhibitory pathways in autoimmunity. *Immunity*. 2016;44:1034–1051.

Lupus Eritematoso Sistêmico

Banchereau J, Pascual V. Type I interferon in systemic lupus erythematosus and other autoimmune diseases. *Immunity*. 2006;25:383–392.

Crow MK. Type I interferon in the pathogenesis of lupus. *J Immunol*. 2014;192:5459–5468.

Tsokos GC. Systemic lupus erythematosus. *NEJM*. 2011;365:2110–2121.

Artrite Reumatoide

Catrina AI, Ytterberg AJ, Reynisdottir G, et al. Lungs, joints and immunity against citrullinated proteins in rheumatoid arthritis. *Nat Rev Rheumatol*. 2014;10:645–653.

Imboden JB. The immunopathogenesis of rheumatoid arthritis. *Annu Rev Pathol*. 2009;4:417–434.

McInnes IB, Schett G. The pathogenesis of rheumatoid arthritis. *NEJM*. 2011;365:2205–2219.

Esclerose Múltipla

Frohman EM, Racke MK, Raine CS. Multiple sclerosis—the plaque and its pathogenesis. *NEJM*. 2006;354:942–955.

Ransohoff RM, Hafler DA, Lucchinetti CF. Multiple sclerosis-a quiet revolution. *Nat Rev Neurol*. 2015;11:134–142.

Diabetes Tipo 1

Pozzilli P, Maddaloni E, Buzzetti R. Combination immunotherapies for type 1 diabetes mellitus. *Nat Rev Endocrinol*. 2015;11:289–297.

Pugliese A. Advances in the etiology and mechanisms of type 1 diabetes. *Discov Med*. 2014;18:141–150.

Reed JC, Herold KC. Thinking bedside at the bench: the NOD mouse model of T1DM. *Nat Rev Endocrinol*. 2015;11:308–314.

Roep BO, Tree TI. Immune modulation in humans: implications for type 1 diabetes mellitus. *Nat Rev Endocrinol*. 2014;10:229–242.

Unanue ER. Antigen presentation in the autoimmune diabetes of the NOD mouse. *Annu Rev Immunol*. 2014;32:579–608.

CAPÍTULO 20

Alergia

VISÃO GERAL DAS REAÇÕES ALÉRGICAS IGE-DEPENDENTES

PRODUÇÃo DE IgE
- Natureza dos Alérgenos
- Ativação das Células T Auxiliares Produtoras de Citocina do Tipo 2
- Ativação das Células B e Troca para IgE

CÉLULAS ENVOLVIDAS NAS REAÇÕES ALÉRGICAS
- Papel das Células Th2 e das Células Linfoides Inatas na Doença Alérgica
- Propriedades dos Mastócitos e Basófilos
- Propriedades dos Eosinófilos

REAÇÕES DEPENDENTES DE IGE E DE MASTÓCITOS
- Reação Imediata
- Reação de Fase Tardia

SUSCETIBILIDADE GENÉTICA À DOENÇA ALÉRGICA
- Fatores Ambientais na Alergia

DOENÇAS ALÉRGICAS EM SERES HUMANOS, PATOGÊNESE E TERAPIA
- Anafilaxia Sistêmica
- Asma Brônquica
- Reações de Hipersensibilidade Imediata no Trato Respiratório Superior, no Trato Gastrintestinal e na Pele
- Imunoterapia Específica (“Dessensibilização”) para Doenças Alérgicas

OS PAPÉIS PROTETORES DAS REAÇÕES IMUNES MEDIADAS POR IgE E POR MASTÓCITOS

RESUMO

Uma variedade de doenças humanas são causadas por respostas imunes a antígenos ambientais não microbianos, e envolvem as citocinas do tipo 2, interleucina-4 (IL-4), IL-5 e IL-13, produzidas por células Th2 e células linfoides inatas (ILCs, do inglês, *innate lymphoid cells*), imunoglobulina E (IgE), mastócitos e eosinófilos. Na fase efetora dessas respostas, mastócitos e eosinófilos são ativados a liberarem rapidamente mediadores causadores de permeabilidade vascular aumentada, vasodilatação e contração da musculatura lisa brônquica e visceral. Essa reação vascular é chamada **hipersensibilidade imediata**, porque começa rápido, em minutos após o desafio com o antígeno em um indivíduo previamente sensibilizado (imediata), tendo consequências patológicas relevantes (hipersensibilidade). Em seguida à resposta imediata, há um componente inflamatório que se desenvolve mais lentamente chamado **reação de fase tardia**, caracterizado pelo acúmulo de neutrófilos, eosinófilos e macrófagos. O termo "hipersensibilidade imediata" é usado comumente para descrever as reações imediata e de fase tardia combinadas. Em medicina clínica, essas reações são chamadas **alergia** ou **atopia**, e as doenças associadas são chamadas doenças de hipersensibilidade alérgica, atópica ou imediata. (O termo "alergia" frequentemente é usado de maneira imprecisa na prática clínica, para descrever outras reações de hipersensibilidade a antígenos ambientais, como a hipersensibilidade de contato.) Crises repetidas de reações dependentes de IgE e de mastócitos podem levar a doenças alérgicas crônicas, acompanhadas de dano e remodelamento tecidual. Dentre esses distúrbios crônicos, os mais comuns são o eczema (também conhecido como dermatite atópica), a febre do feno (rinite alérgica) e a asma alérgica. Os antígenos que elicitam a hipersensibilidade imediata são chamados **alérgenos**. A maioria deles são proteínas ambientais comuns, produtos animais e compostos químicos capazes de modificar proteínas próprias.

Embora a atopia fosse originalmente incomum, agora percebemos que a alergia é o distúrbio de imunidade mais comum, afetando pelo menos 20% de todos os indivíduos nos Estados Unidos e na Europa, com uma prevalência que vem aumentando no mundo inteiro. Este capítulo enfoca

as reações imunes subjacentes às doenças alérgicas mediadas por citocinas do tipo 2, IgE e mastócitos. Descreveremos a sequência de eventos que levam à ativação dos mastócitos e os papéis de vários mediadores na hipersensibilidade imediata. Em seguida, descreveremos síndromes clínicas selecionadas associadas às reações dependentes de IgE e de mastócitos, bem como os princípios da terapia para essas doenças. Concluiremos com uma discussão sobre o papel fisiológico das reações imunes mediadas por IgE na defesa do hospedeiro.

Visão Geral das Reações Alérgicas IgE-dependentes

Todas as reações alérgicas compartilham características comuns, embora sejam muito diferentes quanto aos tipos de antígenos que deflagram essas reações, bem como em relação as suas manifestações clínicas e patológicas.

Uma característica marcante das doenças alérgicas é a produção de anticorpo IgE, a qual depende da ativação de células T auxiliares produtoras de IL-4. Embora indivíduos sadios não respondam — ou somente montem respostas inócuas de anticorpo e de célula T — a antígenos ambientais comuns, indivíduos atópicos desenvolvem fortes respostas de célula T auxiliar produtora de IL-4 e produzem IgE mediante a exposição a estas substâncias.

As reações alérgicas requerem prévia produção de IgE alérgeno-específica dependente de célula T por células B, além da ligação da IgE aos mastócitos. A típica sequência de eventos levando a uma reação de hipersensibilidade imediata é ilustrada na Figura 20.1. A IgE dependente de célula T auxiliar produzida em resposta ao alérgeno se liga aos receptores Fc presentes nos mastócitos, em um processo denominado **sensibilização** de mastócitos. A reexposição ao alérgeno, então, ativa os mastócitos a liberarem mediadores que causam a reação danosa. Descreveremos cada uma dessas etapas detalhadamente, mais adiante, neste capítulo.

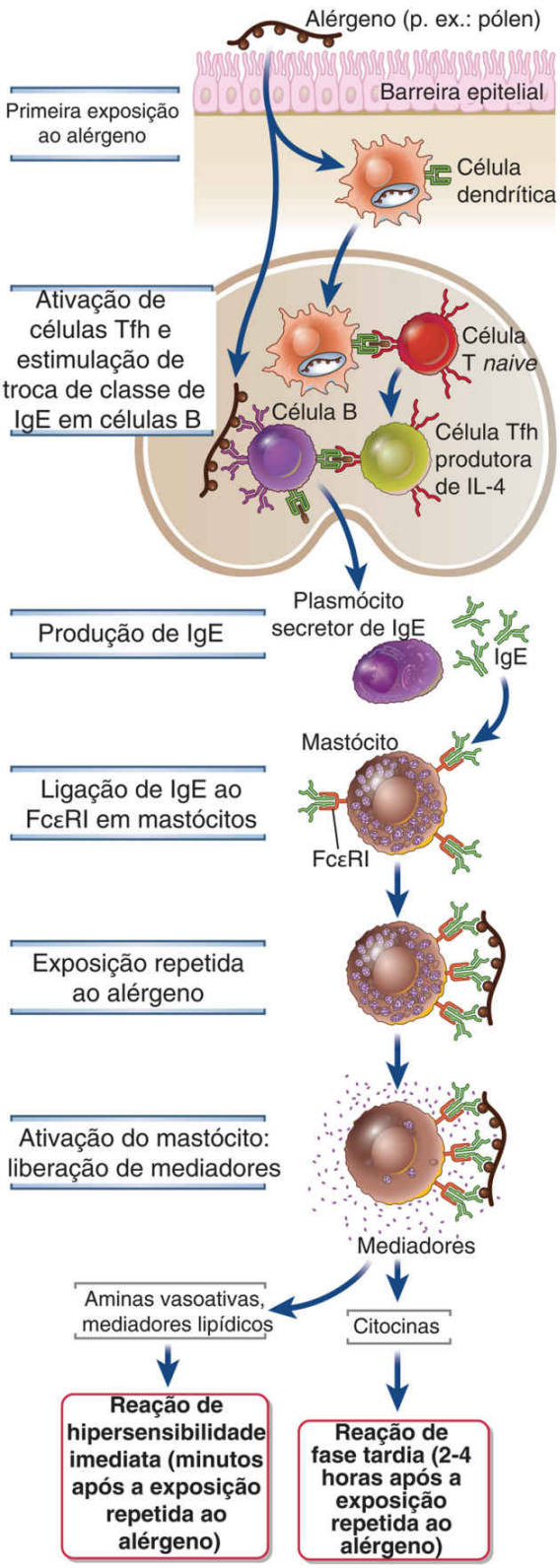


FIGURA 20.1 Sequência de eventos nas reações de hipersensibilidade imediata.

As doenças de hipersensibilidade imediata são iniciadas pela

indução de um alérgeno, que estimula respostas de células T auxiliares produtoras de IL-4 e produção de IgE. A IgE sensibiliza os mastócitos ligando-se ao FcεRI, e a subsequente exposição ao alérgeno ativa os mastócitos a secretarem os mediadores responsáveis pelas reações patológicas de hipersensibilidade imediata.

A alergia é o protótipo da doença inflamatória do tipo 2, mediada pelas citocinas IL-4, IL-5 e IL-13, secretadas por células T auxiliares foliculares (Tfh, do inglês,* T follicular helper*), ILCs do tipo 2 e mais alguns outros tipos celulares. As respostas de citocina dessas células frequentemente são chamadas **respostas imunes do tipo 2**. Muitos dos eventos iniciais e caraterísticas patológicas da reação são deflagrados pelas citocinas, que podem ser produzidas por células Tfh nos órgãos linfoides, bem como por células Th2 clássicas e ILCs nos tecidos. A hipersensibilidade do tipo tardio (DTH, do inglês *delayed-type hypersensitivity*), descrita no Capítulo 19, é o tipo clássico de reação inflamatória e difere em muitos aspectos da alergia.

As manifestações clínicas e patológicas da alergia consistem em reações vasculares e musculares lisas que se desenvolvem rapidamente após a exposição repetida ao alérgeno (hipersensibilidade imediata), e em uma reação inflamatória de fase tardia retardada. Todas essas reações podem ser iniciadas pela ativação IgE-mediada do mastócito, porém diferentes mediadores são responsáveis pelas reações imediata *versus* reação de fase tardia. Como os mastócitos são abundantes nos tecidos conectivos e sob os epitélios, esses tecidos são os sítios mais comuns de reações de hipersensibilidade imediata. Algumas reações de hipersensibilidade imediata podem ser deflagradas por estímulos não imunológicos, como exercício, temperaturas baixas e diversos fármacos. Estes estímulos induzem desgranulação de mastócitos e liberação de mediadores na ausência de exposição antigênica ou de produção de IgE. Essas reações são ditas não atópicas.

As reações alérgicas se manifestam de diversos modos, dependendo dos tecidos afetados, incluindo erupções cutâneas, congestão sinusal, broncoconstrição com dificuldaderespiratória, dor abdominal, diarreia e choque. Na forma sistêmica mais extrema, chamada **anafilaxia**, os mediadores derivados dos mastócitos podem restringir as vias aéreas ao ponto de asfixia e produzir colapso cardiovascular levando ao choque, em ambas as condições frequentemente causando a morte. (O termo anafilaxia foi cunhado para indicar que anticorpos, especialmente anticorpos IgE, poderiam conferir o oposto de proteção [profilaxia] em um indivíduo

desafortunado.) Retomaremos a patogênese dessas reações mais tarde, neste mesmo capítulo.

O desenvolvimento de alergias resulta de interações gene-ambiente complexas e pouco compreendidas. Existe uma predisposição genética para o desenvolvimento das alergias, sendo que os pais de indivíduos alérgicos são mais propensos a terem alergias do que as pessoas não relacionadas, mesmo que não compartilhem os ambientes. Muitos genes de suscetibilidade foram identificados e serão discutidos adiante, ainda neste capítulo. Diversos fatores ambientais, além da exposição aos alérgenos, sobretudo nas sociedades industrializadas, incluindo a poluição do ar e a exposição aos microrganismos, exercem profunda influência sobre a propensão ao desenvolvimento de alergias.

Com essa introdução, prosseguiremos para uma descrição das etapas do desenvolvimento e as reações de hipersensibilidade imediata.

Produção de IgE

Indivíduos atópicos produzem altos níveis de IgE em resposta a alérgenos ambientais, enquanto indivíduos normais geralmente produzem outros isotipos de Ig, como IgM e IgG, e apenas pequenas quantidades de IgE. A IgE tem importância central na atopia, porque este isotipo é responsável pela sensibilização dos mastócitos e também por reconhecer especificamente o antígeno para as reações de hipersensibilidade imediata. A IgE é o isotipo de anticorpo que contém a cadeia pesada ε (Capítulo 5). Liga-se a receptores Fc específicos presentes nos mastócitos e ativa as células mediante a ligação antigênica. A quantidade de IgE sintetizada depende da propensão de um indivíduo a gerar células Tfh alérgeno-específicas produtoras de IL-4 e IL-13, porque essas citocinas estimulam a troca de classe de anticorpo da célula B para IgE (Capítulo 12). O desenvolvimento de respostas de célula T expressando IL-4 e IL-13 contra antígenos particulares podem ser influenciado por diversos fatores, incluindo genes herdados, a natureza dos antígenos e a história de exposição antigênica.

Natureza dos Alérgenos

Os antígenos que elicitam reações de hipersensibilidade imediata (alérgenos) são proteínas ou compostos químicos ligados a proteínas. Entre os alérgenos típicos, estão as proteínas no pólen, os ácaros presentes na poeira doméstica, pelo de animais, alimentos e fármacos. Não se sabe por que somente alguns antígenos induzem respostas de célula T auxiliar produtoras de IL-4 e reações alérgicas. Duas características importantes dos alérgenos são a exposição repetida dos indivíduos a estes antígenos e, diferentemente do observado com microrganismos, a ausência de estimulação dos tipos de respostas imunes inatas associadas ao macrófago e à secreção de citocinas indutoras de Th1 e Th17 por células dendríticas.

A habilidade de um antígeno de deflagrar reações alérgicas também pode estar relacionada a sua natureza química. Embora nenhuma característica estrutural proteica possa prever definitivamente se uma proteína será alergênica, algumas características são típicas de muitos alérgenos comuns. Entre estes, estão o peso molecular baixo a mediano (5-70 kDa), a estabilidade, a glicosilação e a solubilidade nos fluidos corporais. As respostas anafiláticas aos alimentos tipicamente são induzidas por pequenas proteínas altamente glicosiladas. Essas

características estruturais provavelmente protegem os antígenos contra a desnaturação e degradação no trato gastrintestinal, além de permitir que sejam absorvidos intactos. Curiosamente, muitos alérgenos, como a cisteína protease do ácaro da poeira doméstica e a fosfolipase A2 (PLA_2) presente no veneno de abelhas, são enzimas, porém a importância da atividade enzimática para o seu papel como alérgenos é desconhecida.

Como as reações de hipersensibilidade imediata dependem de células T $CD4^+$, antígenos independentes de célula T, como os polissacarídeos, somente podem elicitar essas reações quando se fixam a alguma proteína. Algumas substâncias não proteicas, como a penicilina, podem elicitar fortes respostas de IgE. As moléculas reagem quimicamente com resíduos de aminoácidos em autoproteínas para formar conjugados hapteno-carreador indutores de respostas de célula T auxiliar produtoras de IL-4 e produção de IgE.

A história natural de exposição antigênica é um determinante importante da quantidade produzida de anticorpos IgE específicos. A exposição repetida a um antígeno particular é necessária ao desenvolvimento de uma reação alérgica a esse antígeno, porque a troca para o isotipo IgE e a sensibilização de mastócitos com IgE deve acontecer antes de uma possível reação de hipersensibilidade imediata a algum antígeno. Indivíduos com rinite alérgica ou asma muitas vezes são beneficiados por uma mudança geográfica de residência acompanhada de modificação dos pólens das plantas nativas, ainda que os antígenos ambientais na nova residência possam deflagrar um eventual retorno dos sintomas. Um exemplo drástico da importância da exposição repetida ao antígeno na doença alérgica é visto em casos de ferroadas de abelha. As proteínas em venenos de insetos geralmente não são preocupantes no primeiro encontro, porque um indivíduo atópico não tem anticorpos IgE específicos preexistentes. Contudo pode haver produção de IgE após um único encontro com o antígeno, sem consequências danosas, enquanto uma segunda ferroada de um inseto da mesma espécie pode induzir anafilaxia fatal! Similarmente, exposições a pequenas quantidades de amendoim podem deflagrar reações fatais em indivíduos previamente sensibilizados.

Ativação das Células T Auxiliares Produtoras de Citocina do Tipo 2

O desenvolvimento da doença alérgica começa com a diferenciação de células T auxiliares $CD4^+$ produtoras de IL-4, IL-5 e IL-13 em tecidos

linfoides. Os sinais que dirigem a diferenciação das células T $CD4^+$ *naive* em células Th2 em resposta a maioria dos antígenos ambientais são indeterminados. Como discutido adiante, existe uma forte propensão genética à produção de respostas Th2 contra alguns alérgenos, porém isso por si só não explica por que os indivíduos atópicos são propensos a desenvolver essas respostas. Em algumas doenças alérgicas crônicas, um evento iniciador pode ser a lesão à barreira epitelial resultando em produção local de citocinas Th2-indutoras. Por exemplo, em uma reação alérgica crônica cutânea chamada dermatite atópica, a lesão epitelial geralmente é invisível e tem causa desconhecida, mas às vezes está relacionada à deficiência hereditária de uma proteína de queratinócito chamada filagrina. Se a lesão resultar em permeabilidade aumentada a água e solutos, também aumentará a absorção de alérgenos. Na árvore brônquica do pulmão, as infecções virais são consideradas uma das principais causas de lesão inicial. Em ambos os tecidos, as células epiteliais são induzidas a secretar IL-25, IL-33 e linfopoietina estromal tímica (TSLP, do inglês, *thymic stromal lymphopoietin*). As células dendríticas expostas a essas citocinas são mobilizadas a migrar para os linfonodos e a conduzir a diferenciação de células T *naive* nos linfonodos em células Tfh e Th2 produtoras de IL-4, IL-5 e IL-13. IL-25, IL-33 e TSLP também ativam ILCs do tipo 2 a regularem positivamente GATA3 que, por sua vez, intensifica a transcrição e secreção de IL-5 e IL-13. Em tecidos de barreira epitelial, as ILCs promovem inflamação local, como discutido adiante.

As células Th2 diferenciadas migram para sítios teciduais de exposição ao alérgeno, onde contribuem para a fase inflamatória das reações alérgicas, descrita posteriormente. As células Tfh permanecem em órgãos linfoides, onde podem auxiliar as células B.

Ativação das Células B e Troca para IgE

As células B específicas para alérgenos são ativadas por células Tfh em órgãos linfoides secundários, como em outras respostas de célula B dependentes de célula T (Capítulo 12). Em resposta ao CD40-ligante e às citocinas (sobretudo IL-4 e possivelmente IL-13) produzidas por células T auxiliares, as células B sofrem troca de isotipo de cadeia pesada e produzem IgE. A IgE circula como anticorpo bivalente e normalmente está presente no plasma em concentrações abaixo de 1 μg/mL. Em condições patológicas, como nas infecções helmínticas e na atopia grave, esse nível pode subir para mais de 1.000 μg/mL. A IgE alérgeno-específica produzida por plasmoblastos e plasmócitos entra na circulação e se liga a receptores

Fc presentes nos mastócitos teciduais, de modo que essas células são sensibilizadas e estarão prontas a reagir a um encontro subsequente com o alérgeno. Basófilos circulantes também são capazes de se ligar à IgE.

Células Envolvidas nas Reações Alérgicas

As células secretoras de citocinas do tipo 2 (células Th2 e, possivelmente, ILCs), mastócitos, basófilos e eosinófilos são as principais células efetoras das reações de hipersensibilidade imediata e da doença alérgica. Embora cada um desses tipos celulares tenha características exclusivas, todos os quatro secretam mediadores de reações alérgicas. Mastócitos, basófilos e eosinófilos, diferentemente das células Th2 e ILCs, têm grânulos citoplasmáticos contendo aminas e enzimas pré-formadas, e todos os três tipos celulares produzem mediadores lipídicos e citocinas indutoras de inflamação. As células Th2 e ILCs contribuem para a inflamação secretando citocinas. Nessa seção, discutiremos os papéis dos tipos celulares nas reações alérgicas.

Papel das Células Th2 e das Células Linfoides Inatas na Doença Alérgica

As células Th2 secretam citocinas, incluindo IL-4, IL-5 e IL-13, que atuam de forma combinada com os mastócitos, eosinófilos e ILCs promovendo respostas inflamatórias a alérgenos junto aos tecidos. As propriedades gerais das células Th2 e os sinais que dirigem sua diferenciação a partir de células T *naive* foram discutidos no Capítulo 10. A IL-4 secretada por células Th2 induz expressão de VCAM-1 endotelial, que promove recrutamento de eosinófilos e células Th2 adicionais para os tecidos. A IL-5 secretada pelas células Th2 ativa os eosinófilos. A IL-13 estimula as células epiteliais (p. ex.: nas vias aéreas) a secretarem quantidades aumentadas de muco, sendo que a produção excessiva de muco também é uma característica comum dessas reações. As células Th2 também contribuem para a inflamação da reação de fase tardia, descrita adiante.

Consistente com um papel central das células Th2 na hipersensibilidade imediata, mais células T alérgeno-específicas secretoras de IL-4 são encontradas no sangue de indivíduos atópicos do que em indivíduos não atópicos. Em pacientes atópicos, as células T alérgeno-específicas também produzem mais IL-4 por célula do que em indivíduos normais. Em modelos experimentais com animais, uma doença semelhante à asma humana pode ser induzida pela geração de células Th2 específicas para um antígeno inalado, ou por transferência adotiva dessas células para

camundongos *naive*. Acúmulos de células Th2 são encontrados em sítios de reações de hipersensibilidade imediata na pele e mucosa brônquica.

Os ILCs do tipo 2 produzem muitas das mesmas citocinas produzidas pelas células Th2, especificamente IL-5 e IL-13, podendo assim exercer papéis similares nas reações alérgicas. Como os ILCs normalmente residem nos tecidos, suas citocinas podem contribuir para a inflamação alérgica inicial, antes de as células Th2 serem geradas e migrarem para os tecidos. Os ILCs do tipo 2 também podem atuar em conjunto com as células Th2, posteriormente, para sustentar a inflamação.

Mastócitos, basófilos e eosinófilos são células mieloides que compartilham algumas características, mas que apresentam significativas diferenças fenotípicas e funcionais (Tabela 20.1 e Fig. 20.2).

Tabela 20.1

Propriedades de Mastócitos, Basófilos e Eosinófilos

Característica	Mastócitos	Basófilos	Eosinófilos
Principal sítio de maturação	Os precursores na medula óssea amadurecem no tecido conectivo e nos tecidos de mucosa	Medula óssea	Medula óssea
Localização das células	Tecido conectivo e tecidos de mucosa	Sangue (~0,5% dos leucócitos sanguíneos); recrutados para os tecidos	Sangue (~2% dos leucócitos sanguíneos); recrutados para os tecidos
Expectativa de vida	Semanas a meses	Dias	Dias a semanas
Principal fator de crescimento e diferenciação (citocinas)	Fator de célula-tronco, IL-3	IL-3	IL-5
Expressão de FcεRI	Alta	Alta	Alta
Principais conteúdos do grânulo	Histamina, heparina e/ou sulfato de condroitina, proteases	Histamina, sulfato de condroitina, protease	Proteína básica principal, proteína catiônica do eosinófilo, peroxidases, hidrolases, lisofosfolipase

FcεRI, receptor Fcε do tipo I; *IL*, interleucina.

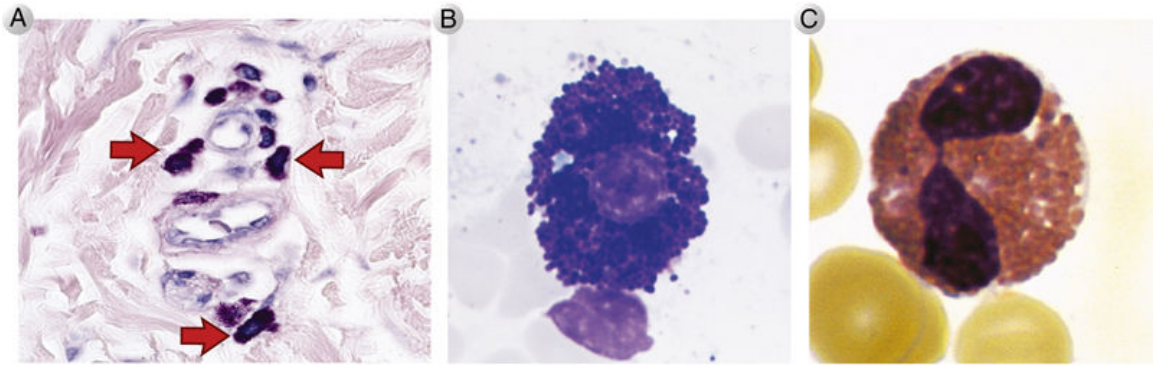


FIGURA 20.2 Morfologia dos mastócitos, basófilos e eosinófilos.
São apresentadas fotomicrografias de mastócitos dérmicos perivasculares corados com Wright-Giemsa (**A**, *setas*), basófilo do sangue periférico **(B)**, e eosinófilo do sangue periférico **(C)**. Note os característicos grânulos citoplasmáticos corados em azul do basófilo, e os grânulos citoplasmáticos corados em vermelho no eosinófilo. (**A**, Cortesia de Dr. George Murphy. **B** e **C**, Cortesia de Dr. Jonathan Hecht, Department of Pathology, Brigham and Women's Hospital, Boston, Massachusetts.)

Propriedades dos Mastócitos e Basófilos

Todos os mastócitos derivam de progenitores na medula óssea. Normalmente, os mastócitos maduros não são encontrados na circulação. Os progenitores migram para os tecidos periféricos, como células imaturas, e sofrem diferenciação em resposta a estímulos bioquímicos locais, incluindo um fator liberado por células-tronco que se liga ao receptor de c-Kit em precursores de mastócitos. Os mastócitos maduros são encontrados ao longo de todo o corpo, de forma predominante próximos aos vasos sanguíneos (Fig. 20.2A) e nervos, e também sob os epitélios. São encontrados ainda em órgãos linfoides. Os mastócitos humanos variam quanto ao formato, têm núcleos redondos e seu citoplasma contém corpúsculos lipídicos e grânulos ligados à membrana. Os grânulos contêm proteoglicanas acídicas que se ligam a corantes básicos.

Mastócitos ativados secretam vários mediadores responsáveis pelas manifestações de reações alérgicas (Tabela 20.2). Estes incluem substâncias que são estocadas nos grânulos e rapidamente liberadas mediante ativação, e outras que são sintetizadas mediante ativação e, então, secretadas. A produção e as ações destes mediadores são descritas adiante.

Tabela 20.2

Mediadores Produzidos por Mastócitos, Basófilos e Eosinófilos

Tipo Celular	Categoria do Mediador	Mediador	Função/Efeitos Patológicos
Mastócitos e Basófilos			
	Estocado na forma pré-formada em grânulos citoplasmáticos	Histamina Enzimas: proteases neutras (triptase e/ou quimase), hidrolases ácidas, catepsina G, carboxipeptidase	Aumenta a permeabilidade vascular, estimula a contração das células musculares lisas Degradação de estruturas microbianas; dano/remodelamento tecidual
	Principais mediadores lipídicos produzidos pela ativação	PGD_2 Leucotrienos C_4, D_4, E_4 PAF	Vasodilatação; broncoconstrição; quimiotaxia de leucócitos Broncoconstrição prolongada; secreção de muco; permeabilidade vascular aumentada Vasodilatação; permeabilidade vascular aumentada; adesão, quimiotaxia, desgranulação e explosão respiratória (*burst* oxidativo) de leucócitos
	Citocinas produzidas pela ativação	IL-3, TNF, MIP-1α IL-4, IL-13 IL-5	Proliferação de mastócitos; inflamação (reação de fase tardia) Produção de IgE; secreção de muco Produção e ativação de eosinófilos
Eosinófilos			
	Estocado na forma pré-formada em grânulos citoplasmáticos	Proteína básica principal, proteína catiônica do eosinófilo Peroxidase do eosinófilo, hidrolases lisossômicas, lisofosfolipase	Tóxico para helmintos, bactérias, células do hospedeiro Degradação da parede celular de helmintos e protozoários; dano/remodelamento tecidual

Tipo Celular	Categoria do Mediador	Mediador	Função/Efeitos Patológicos
	Principais mediadores lipídicos produzidos pela ativação	Leucotrienos C_4, D_4 e E_4	Broncoconstrição prolongada; secreção de muco; permeabilidade vascular aumentada
	Citocinas produzidas à ativação	IL-3, IL-5, GM-CSF IL-8, IL-10, RANTES, MIP-1α, eotaxina	Produção e ativação de eosinófilo Quimiotaxia de leucócitos

FcεRI, receptor Fcε do tipo I; *GM-CSF*, fator estimulador de colônia de granulócito-macrófago; *MIP-1α*, *monocyte inflammatory protein 1α*; *PAF*, fator ativador de plaquetas; *PGD_2*, prostaglandina D2; *RANTES*, *regulated by activation, normal T cell expressed and secreted*; *TNF*, fator de necrose tumoral.

Duas subpopulações principais de mastócitos foram descritas, uma encontrada na mucosa dos tratos gastrintestinal e respiratório, e a outra presente nos demais tecidos conectivos. Os mastócitos de mucosa contêm grânulos ricos em sulfato de condroitina e triptase, com pouca histamina, e são encontrados na mucosa intestinal e nos espaços alveolares no pulmão. Os mastócitos do tecido conectivo contêm grânulos ricos em heparina e proteases neutras, produzem grandes quantidades de histamina e são encontrados na pele e submucosa intestinal. Entretanto, é possível que todos os mastócitos apresentem essas propriedades, com algumas variações quantitativas, e que estas não são sejam características de subpopulações estáveis e distintas.

Os basófilos são granulócitos sanguíneos que apresentam similaridades estruturais e funcionais com os mastócitos. Como outros granulócitos, os basófilos derivam de progenitores da medula óssea (os quais diferem dos precursores de mastócitos), amadurecem na medula óssea e circulam no sangue (Fig. 20.2B). Os basófilos constituem menos de 1% dos leucócitos sanguíneos. Apesar de normalmente estarem ausentes nos tecidos, os basófilos podem ser recrutados para alguns sítios inflamatórios. Os basófilos contêm grânulos que se ligam a corantes básicos e são capazes de sintetizar muitos dos mesmos mediadores produzidos pelos mastócitos (Tabela 20.2). Assim como os mastócitos, os basófilos expressam receptor Fcε tipo I (FcεRI), ligam IgE e podem ser desencadeados pela ligação do antígeno à IgE. Portanto, os basófilos recrutados para os sítios teciduais onde o antígeno está presente podem contribuir para as reações de hipersensibilidade imediata.

Ligação de IgE aos Mastócitos e Basófilos: Receptor Fcε

Mastócitos e basófilos expressam um receptor Fc de alta afinidade para cadeias pesadas ε, chamado FcεRI, que se liga à IgE. A IgE, como todos os outros anticorpos, é produzida exclusivamente por células B, embora atue como receptor de antígeno na superfície de mastócitos e basófilos. Essa função é realizada por meio da ligação da IgE ao FcεRI nestas células. A afinidade do FcεRI pela IgE é muito alta (constante de dissociação [K_d] de aproximadamente 1×10^{-10} M), maior do que a de qualquer outro receptor Fc para seu anticorpo ligante. Sendo assim, na concentração sérica normal de IgE, ainda que baixa em comparação a dos outros isotipos de Ig ($<5 \times 10^{-10}$ M), há ocupação total dos receptores FcεRI pela IgE, e a maioria dos mastócitos está sempre recoberta com IgE, mesmo em indivíduos não atópicos. Além dos mastócitos e basófilos, o FcεRI foi detectado em eosinófilos, células de Langerhans epidérmicas e alguns macrófagos dérmicos, bem como em monócitos ativados.

Cada molécula de FcεRI presente nos mastócitos é composta de uma cadeia α que se liga à região Fc da IgE, além de uma cadeia β e duas cadeias γ responsáveis pela sinalização (Fig. 20.3). A porção aminoterminal extracelular da cadeia α inclui dois domínios Ig-símile que formam o sítio de ligação para IgE. A cadeia β do FcεRI contém um único motivo de ativação baseado na tirosina do imunorreceptor (ITAM, do inglês, *immunoreceptor tyrosine-based activation motif*) no domínio carboxiterminal citoplasmático. Os dois polipeptídeos de cadeia γ idênticos são ligados por uma ligação dissulfeto e são homólogos à cadeia ζ do complexo receptor antigênico da célula T (Capítulo 7). A porção citoplasmática de cada cadeia γ contém um ITAM. A mesma cadeia γ atua como subunidade sinalizadora para FcεRI, FcεRIIIA e FcαR, sendo chamada cadeia γ de FcR (Capítulo 13). A fosforilação da tirosina dos ITAMs das cadeias β e γ inicia a cascata de sinalização a partir do receptor requerida para a ativação dos mastócitos, descrita a seguir. Embora o FcεRI presente nos mastócitos e basófilos seja expresso como um tetrâmero $\alpha\beta\gamma_2$, os receptores presentes nos eosinófilos e em vários outros tipos celulares podem incluir trímeros $\alpha\gamma_2$, de modo que a sinalização deve ser mediada apenas pela cadeia γ nessas células.

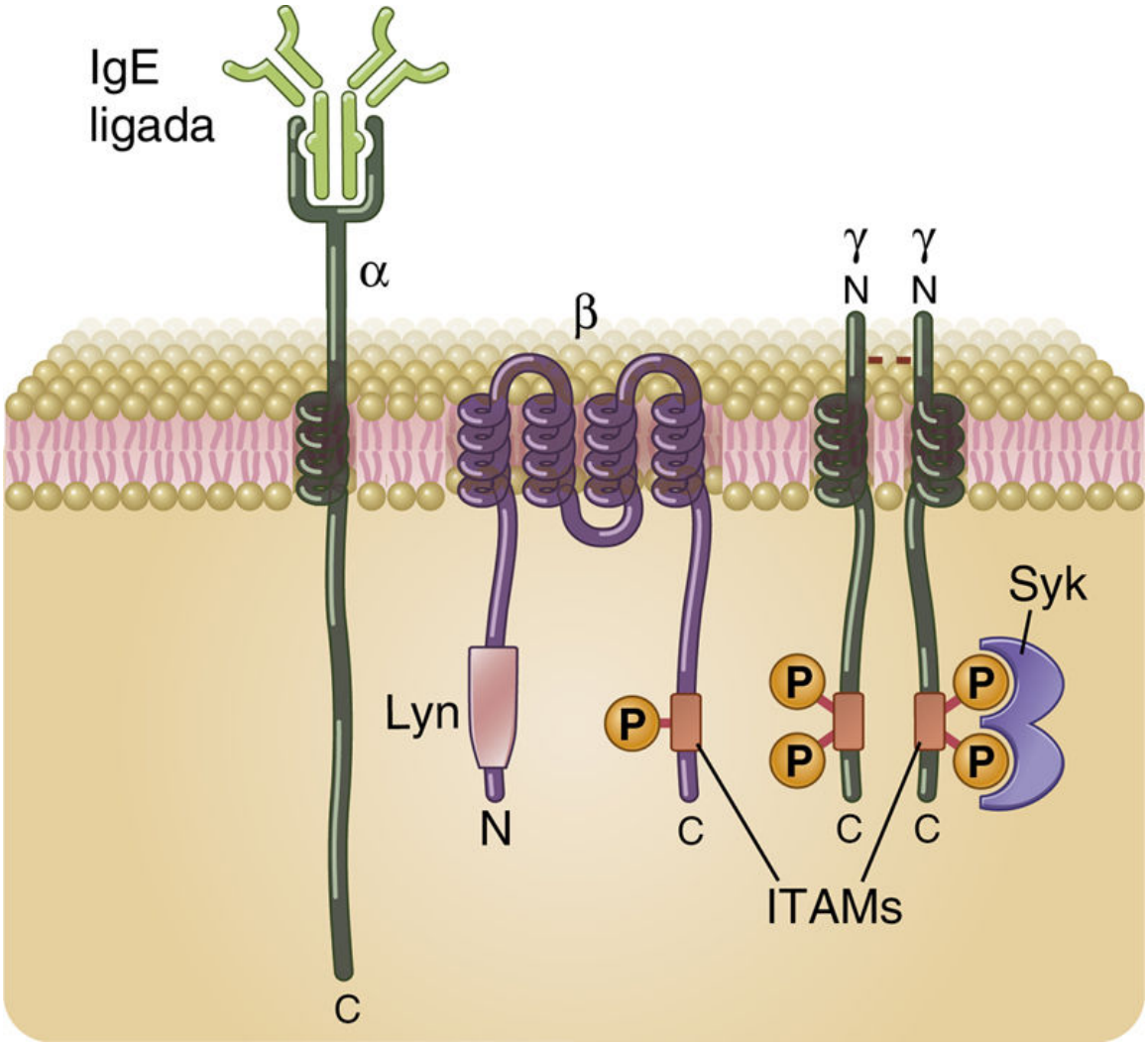


FIGURA 20.3 Estrutura da cadeia polipeptídica do receptor Fc de alta afinidade para IgE (FcεRI).
A IgE se liga aos domínios Ig-símile da cadeia α. A cadeia β e as cadeias γ medeiam a tradução de sinal. Os ITAMs na região citoplasmática das cadeias β e γ são similares àqueles encontrados no complexo receptor da célula T (Fig. 7.8). Lyn e Syk são tirosina quinases que se ligam às cadeias β e γ, e participam nos eventos de sinalização. Um modelo da estrutura de FcεRI é mostrado no Capítulo 12.

A importância do FcεRI nas reações de hipersensibilidade imediata mediada por IgE foi demonstrada em camundongos nocauteados para a cadeia α de FcεRI. Quando esses camundongos receberam injeções intravenosas de IgE específica para um antígeno conhecido seguidas do próprio antígeno, não houve desenvolvimento de anafilaxia ou apenas uma reação branda foi observada. Por outro lado, camundongos do tipo selvagem tratados do mesmo modo desenvolveram uma reação grave. A

expressão de FcεRI na superfície dos mastócitos e basófilos é aumentada pela IgE, fornecendo assim um mecanismo para a amplificação de reações mediadas por IgE.

Outro receptor de IgE, chamado FcεRII, também conhecido como CD23, é uma proteína relacionada às lectinas do tipo C de mamíferos, cuja afinidade pela IgE é significativamente menor do que a do FcεRI. O papel biológico do FcεRII é desconhecido.

Ativação de Mastócitos

Os mastócitos são ativados pela ligação cruzada de moléculas FcεRI, a qual se dá por meio da ligação de antígenos multivalentes a moléculas de IgE que estão fixas a receptores Fc (Fig. 20.4). Em um indivíduo alérgico a um antígeno particular, uma ampla proporção da IgE ligada ao FcεRI na superfície dos mastócitos é específica para esse antígeno. A exposição ao antígeno resultará na ligação cruzada de um número suficiente de moléculas de IgE para deflagrar a ativação do mastócito. Em contraste, em indivíduos não atópicos, as moléculas de IgE ligadas aos mastócitos são específicas para muitos antígenos distintos que podem, todos, ter induzido baixos níveis de produção de IgE. Portanto, nenhum antígeno isolado fará ligação cruzada de um número de moléculas de IgE suficiente para causar ativação de mastócito.

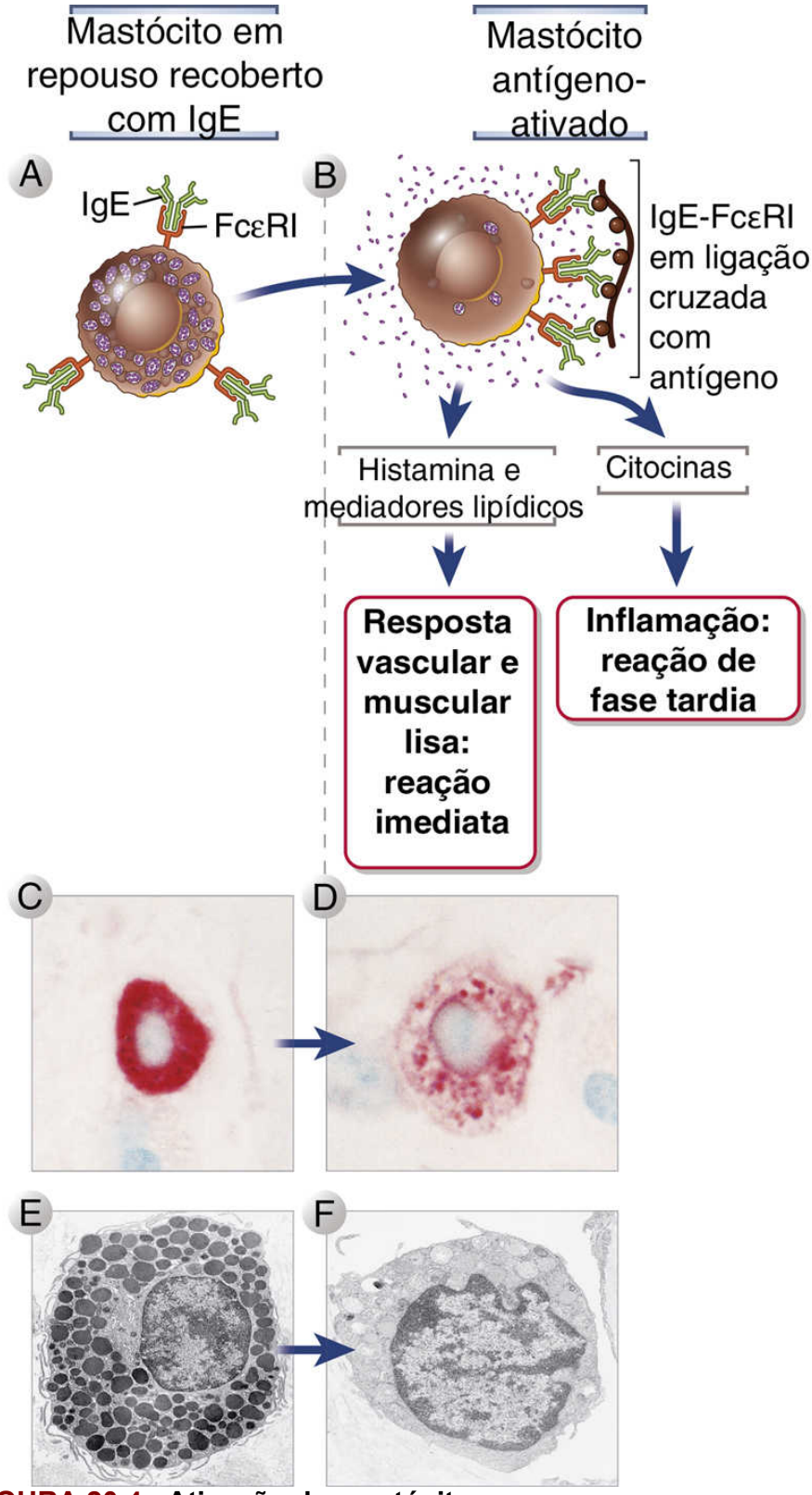


FIGURA 20.4 Ativação do mastócito.
A ligação do antígeno à IgE faz ligação cruzada com moléculas de FcεRI nos mastócitos. Isso induz a liberação de mediadores

causadores de reação de hipersensibilidade (**A** e **B**). Outros estímulos, incluindo o fragmento de complemento C5a, também podem ativar mastócitos. Uma fotomicrografia de um mastócito em repouso contendo abundantes grânulos citoplasmáticos corados em púrpura é mostrada em **C**. Esses grânulos também são vistos na micrografia eletrônica de um mastócito em repouso mostrado em **E**. Em contraste, os grânulos depletados de um mastócito ativado são mostrados na fotomicrografia **(D)** e micrografia eletrônica **(F)**. (Cortesia de Dr. Daniel Friend, Department of Pathology, Brigham and Women's Hospital and Harvard Medical School, Boston, Massachusetts.)

A ativação de mastócitos resulta em três tipos de resposta biológica: secreção dos conteúdos pré-formados dos grânulos por exocitose (desgranulação), síntese e secreção de mediadores lipídicos, e síntese e secreção de citocinas. As cascatas de sinalização iniciadas pela ligação cruzada de FcεRI alérgeno-mediada são similares aos eventos sinalizadores proximais iniciados pela ligação do antígeno aos linfócitos (Fig. 20.5; Capítulo 7). Quando o FcεRI sofre ligação cruzada por um alérgeno via IgE ligada, a tirosina quinase Lyn constitutivamente associada à cauda citoplasmática da cadeia β do FcεRI fosforila os ITAMs próximos localizados nas caudas citoplasmáticas das cadeias β e γ de FcεRI. A tirosina quinase Syk então é recrutada para os ITAMs da cadeia γ, se torna ativada, fosforilando e ativando outras proteínas na cascata de sinalização, incluindo várias moléculas adaptadoras e enzimas que participam na formação de complexos sinalizadores multicomponentes, como descrito nas células T. O complexo inclui a fosfolipase Cγ (PLCγ) que catalisa a quebra de fosfatidilinositol bifosfato para geração de trifosfato de inositol (IP3) e diacilglicerol (DAG) que, por sua vez, geram os sinais de Ca^{++} e da proteína quinase C (PKC), respectivamente (Capítulo 7). A PKC também é ativada em mastócitos, pela PI3-quinase.

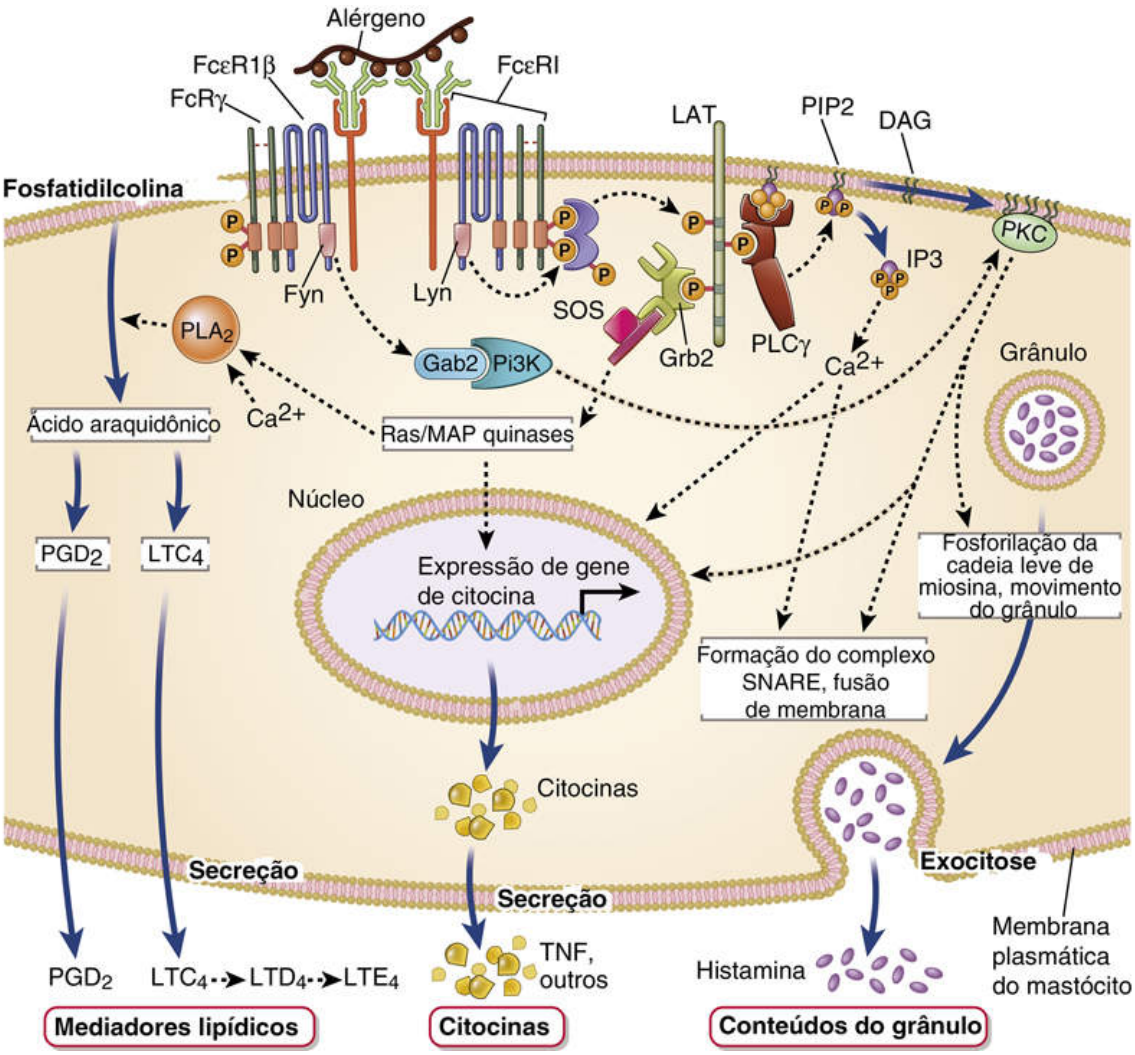


FIGURA 20.5 Eventos bioquímicos da ativação do mastócito. A ligação cruzada de IgE pelo antígeno ativa proteínas tirosina quinases (Syk e Lyn) que, por sua vez, causam ativação de uma cascata de MAP quinase e fosfolipase Cγ (PLCγ). A PLCγ catalisa a liberação de IP3 e DAG a partir de PIP2 de membrana. IP3 causa liberação do cálcio intracelular a partir do retículo endoplasmático. Cálcio e DAG ativam PKC. Cálcio, MAP quinases e PKC promovem transcrição de gene de citocina, levando à secreção de citocinas. PKC e cálcio também intensificam a exocitose de grânulos, com liberação de histamina e outros mediadores pré-formados. Cálcio e MAP quinases se combinam para ativar a enzima citosólica PLA_2 que inicia a síntese de mediadores lipídicos, incluindo prostaglandina D_2 (PGD_2) e leucotrieno C_4 (LTC_4).

Esses eventos de sinalização levam a três respostas principais:

- ***Desgranulação.*** A PKC ativada fosforila a cadeia leve da miosina que compõe os complexos actina-miosina localizados sob a membrana plasmática, levando à desmontagem do complexo. Isso permite que os grânulos citoplasmáticos entrem em contato com a membrana plasmática. A membrana do grânulo do mastócito então se funde à membrana plasmática, em um processo mediado pelos membros da família de proteínas SNARE, envolvidas em muitos outros eventos de fusão de membrana. Diferentes proteínas SNARE presentes nos grânulos e membranas plasmáticas interagem para formar um complexo multimérico que catalisa a fusão. A formação de complexos SNARE é regulada por várias moléculas acessórias, incluindo guanosina trifosfatases Rab3, além de fosfatases e quinases Rab-associadas. Nos mastócitos em repouso, as enzimas inibem a fusão da membrana do grânulo do mastócito à membrana plasmática. Na ligação cruzada de FcεRI, o aumento resultante nas concentrações citoplasmáticas de cálcio e a ativação de PKC bloqueiam a atividade de moléculas acessórias inibidoras. Em adição, as proteínas sensoras de cálcio respondem a concentrações de cálcio elevadas promovendo a formação do complexo SNARE e a fusão da membrana. Em seguida, a fusão da membrana, os conteúdos dos grânulos dos mastócitos são liberados no ambiente extracelular. Esse processo pode ocorrer segundos após a ligação cruzada de FcεRI e pode ser morfologicamente visualizado pela perda dos grânulos densos dos mastócitos (Fig. 20.4). As ações biológicas dos conteúdos dos grânulos liberados quando da desgranulação dos mastócitos são descritos adiante.
- ***Produção de mediadores lipídicos.*** A síntese de mediadores lipídicos é controlada pela enzima citosólica fosfolipase A2 (PLA_2, Fig. 20.5). A enzima é ativada por dois sinais: Ca^{++} citoplasmático elevado e fosforilação catalisada por uma proteína quinase ativada por mitógeno (MAP, do inglês, *mitogen-activated protein*), como a quinase ativada por receptor extracelular (ERK, do inglês, *extracellular receptor-activated kinase*). A ERK é ativada em consequência de uma cascata de quinases iniciada pelos ITAMs do receptor, provavelmente usando os mesmos intermediários que nas células T (Capítulo 7). Uma vez ativada, a PLA_2 hidrolisa os fosfolipídeos de membrana a liberarem ácido araquidônico e este é convertido pela cicloxigenase ou pela lipoxigenase em diferentes mediadores (discutidos adiante).

- ***Produção de citocinas.*** A secreção de citocinas por mastócitos ativados é consequência da transcrição de genes de citocinas neoformadas. Os eventos bioquímicos que regulam a transcrição gênica em mastócitos parecem ser similares aos eventos que ocorrem nas células T. O recrutamento e ativação de várias moléculas adaptadoras e quinases em resposta à ligação cruzada de FcεRI leva à translocação nuclear do fator nuclear de células T ativadas (NFAT, do inglês, *nuclear factor of activated T cells*) e do fator nuclear κB (NF-κB, do inglês *nuclear fator κB*), bem como à ativação da proteína de ativação 1 (AP-1, do inglês, *activation protein 1*) por proteínas quinases como a quinase c-Jun N-terminal. Esses fatores de transcrição estimulam a expressão de várias citocinas (IL-4, IL-5, IL-6, IL-13 e fator de necrose tumoral [TNF], entre outras), todavia contrastando com as células T por não induzírem IL-2.

A ativação dos mastócitos pela via do FcεRI é regulada por vários receptores de inibição contendo motivos de inibição baseados na tirosina do imunorreceptor (ITIMs, do inglês, *immunoreceptor tyrosine-based inhibition motifs*) em suas caudas citoplasmáticas (Capítulo 7). Um desses receptores inibidores é FcγRIIB, que se coagrega ao FcεRI durante a ativação dos mastócitos. O ITIM do FcγRIIB é fosforilado por Lyn, e isso leva ao recrutamento da fosfatase chamada inositol 5-fosfatase contendo domínio SH2 (SHIP, do inglês, *SH2 domain-containing inositol 5-phosphatase*), além de inibição da sinalização de FcεRI. Experimentos realizados com camundongos indicam que FcγRIIB inibe a desgranulação dos mastócitos *in vivo*. Vários outros receptores de inibição também são expressos em mastócitos, mas sua importância *in vivo* ainda é desconhecida.

Além a ligação cruzada alérgeno-induzida de FcεRI, muitos outros estímulos inflamatórios podem ativar mastócitos na ausência de alérgenos ou sinergizar com alérgenos. Os fragmentos do complemento C3a e C5a podem causar a desgranulação dos mastócitos e é por isso que são nomeados anafilatoxinas. Outros estímulos induzem ativação seletiva de mastócitos para produção de metabolitos do ácido araquidônico, citocinas e quimiocinas, mas não a desgranulação. Os estímulos incluem ligantes de receptor tipo *Toll* (TLR, do inglês, *Toll-like receptor*); substâncias liberadas de células lesadas; glucanas fúngicas; peptídeos antimicrobianos; citocinas, como SCF, IL-3, IL-4, IL-9 e IL-33; ATP; leucotrienos; e várias quimiocinas. Os modos adicionais de ativação de mastócitos podem ser importantes nas

reações de hipersensibilidade imediata não imunomediada, ou podem amplificar as reações mediadas por IgE. Em adição, as respostas inflamatórias iniciadas de maneira independente de mastócitos, como parte da resposta inata inicial à infecção ou lesão tecidual, podem ser amplificadas quando citocinas, quimiocinas e fragmentos do complemento produzidos atuam nos mastócitos locais.

Muitos neuropeptídeos, incluindo a substância P, somatostatina e peptídeo vasoativo intestinal, induzem a liberação de histamina pelos mastócitos e podem mediar a ativação de mastócitos neuroendócrino-associada. O sistema nervoso central comprovadamente modula as reações de hipersensibilidade imediata, podendo haver envolvimento de neuropeptídeos neste efeito. A exacerbação produzida nas bordas de uma pápula durante as reações de hipersensibilidade imediata é, em parte, mediada pelo sistema nervoso, como podemos constatar pela observação de sua acentuada diminuição em sítios cutâneos não inervados. As temperaturas frias e o exercício intenso também deflagram a desgranulação dos mastócitos, contudo os mecanismos envolvidos são desconhecidos.

A desgranulação dos mastócitos também pode ser estimulada por muitas substâncias catiônicas diferentes, coletivamente chamadas secretagogos. Estas incluem peptídeos inflamatórios endógenos, fármacos que comprovadamente causam reações adversas semelhantes à alergia, e os compostos 48/80 e mastoparana usados experimentalmente como desencadeadores farmacológicos para mastócitos. A maioria dos agentes contém um motivo compartilhado de tretra-hidroisoquinolina e atuam ativando um receptor acoplado à proteína G.

Os mastócitos também expressam receptores Fc para cadeias pesadas de IgG, e as celulas podem ser ativadas por ligação cruzada da IgG ligada. Essa reação mediada por IgG é a provável explicação para o achado de que camundongos nocauteados para cadeia ε de Ig não são totalmente resistentes à anafilaxia mediada por mastócito antígeno-induzida. No entanto, a IgE é o principal isotipo de anticorpo envolvido na maioria das reações de hipersensibilidade imediata.

A ativação dos mastócitos não é um fenômeno do tipo tudo ou nada, e diferentes tipos ou níveis de estímulos podem elicitar respostas parciais, com produção de alguns mediadores e não de outros. Essas variações na ativação e na liberação de mediador podem explicar as apresentações clínicas variáveis.

Mediadores Derivados de Mastócitos

As funções efetoras dos mastócitos são mediadas por moléculas solúveis liberadas de células ativadas (Fig. 20.6; Tabela 20.2). Os mediadores podem ser divididos em mediadores pré-formados, que incluem as aminas vasoativas e macromoléculas contidas nos grânulos; e mediadores neoformados, que incluem mediadores lipídicos e citocinas.

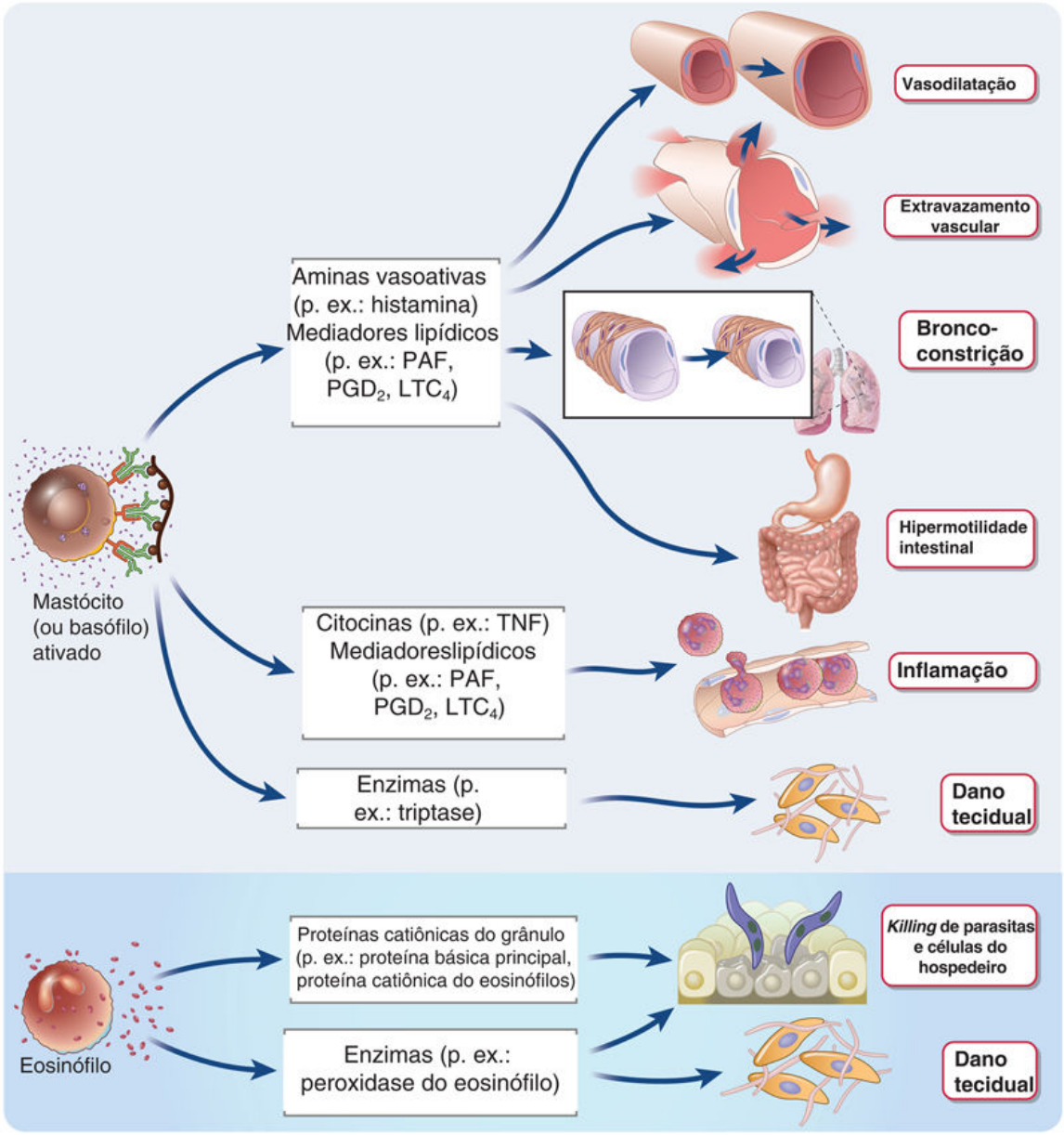


FIGURA 20.6 Efeitos biológicos dos mediadores da hipersensibilidade imediata.
Os mediadores de mastócitos e basófilos incluem as aminas vasoativas e enzimas armazenadas pré-formadas nos grânulos, bem como citocinas e mediadores lipídicos, os quais são amplamente sintetizados *de novo* quando da ativação celular. As aminas biogênicas e mediadores lipídicos induzem extravasamento vascular, broncoconstrição e hipermotilidade intestinal, todos componentes da resposta imediata. As citocinas e mediadores lipídicos contribuem para a inflamação, que é parte da reação de fase tardia. As enzimas provavelmente contribuem para o dano tecidual. Os eosinófilos ativados liberam proteínas catiônicas pré-formadas, bem como enzimas tóxicas para parasitas e células do

hospedeiro. Algumas enzimas dos grânulos dos eosinófilos provavelmente contribuem para o dano tecidual nas doenças alérgicas crônicas.

Aminas Vasoativas

Muitos dos efeitos biológicos da ativação dos mastócitos são mediados pelas aminas vasoativas liberadas dos grânulos citoplasmáticos e atuam nos vasos e na musculatura lisa. As aminas vasoativas são compostos de baixo peso molecular que contêm um grupo amina e atuam diretamente sobre os vasos sanguíneos. Em mastócitos humanos, o principal mediador dessa classe é a **histamina**, mas em alguns roedores, a serotonina pode ter importância igual ou superior. A histamina atua se ligando aos receptores da célula-alvo, sendo que diferentes tipos celulares expressam classes distintas de receptores de histamina (p. ex.: H1, H2, H3) que podem ser distinguidos por sua sensibilidade a diferentes inibidores farmacológicos. As ações da histamina são de curta duração, porque a histamina é rapidamente removida do *milieu* extracelular por sistemas de transporte amina-específicos. Ao se ligar aos receptores celulares, a histamina inicia eventos intracelulares, como a quebra de fosfatidilinositol em IP3 e DAG, e esses produtos causam diferentes alterações em tipos celulares distintos. A ligação da histamina ao endotélio causa contração das células endoteliais, levando a espaços interendoteliais aumentados, aumento da permeabilidade vascular e extravasamento plasmático para dentro dos tecidos. A histamina também estimula as células endoteliais a sintetizarem relaxantes de células musculares lisas vasculares, como a prostaciclina (PGI_2) e o óxido nítrico, causadores de vasodilatação. Essas ações da histamina produzem a resposta de pápula e eritema da hipersensibilidade imediata (descrita adiante). Os antagonistas do receptor H1 (comumente chamados anti-histamínicos) podem inibir as respostas vasculares a alérgenos intradérmicos ou anticorpos anti-IgE. A histamina também causa contração da musculatura lisa intestinal e brônquica. Assim, a histamina pode contribuir para o peristaltismo aumentado e broncoespasmo associados a alérgenos ingeridos e inalados, respectivamente. Entretanto, em alguns distúrbios alérgicos e especialmente na asma, os anti-histamínicos são inefetivos para suprimir a reação. Além disso, a broncoconstrição na asma é mais prolongada do que os efeitos da histamina, indicando que outros mediadores derivados dos mastócitos são importantes em algumas formas de hipersensibilidade imediata.

Enzimas e Proteoglicanas dos Grânulos

As serina proteases neutras, incluindo a triptase e quimase, são os constituintes proteicos mais abundantes dos grânulos secretores dos mastócitos e contribuem para o dano tecidual produzido durante as reações de hipersensibilidade imediata. A triptase está presente em todos os mastócitos humanos e sua presença em outro tipo celular qualquer é desconhecida. Portanto, a presença de triptase em fluidos biológicos humanos é interpretada como marcador de ativação de mastócitos, sendo por vezes usada clinicamente para diagnosticar a anafilaxia. A quimase é encontrada em alguns mastócitos humanos, e sua presença ou ausência é um critério para a caracterização de subpopulações de mastócitos humanos, conforme já discutido. As funções dessas enzimas *in vivo* não estão estabelecidas; entretanto, várias atividades demonstradas *in vivo* sugerem ações biológicas importantes. Por exemplo, a triptase cliva o fibrinogênio e ativa a colagenase, acarretando assim dano tecidual, enquanto a quimase pode converter angiotensina I em angiotensina II, que causa vasoconstrição transiente, degrada membranas basais epidérmicas e estimula a secreção de muco. Outras enzimas encontradas nos grânulos dos mastócitos incluem a carboxipeptidase A e a catepsina G. Os grânulos dos basófilos também contêm várias enzimas, algumas das quais são as mesmas presentes nos grânulos dos mastócitos, como as proteases neutras. Outras enzimas, como a proteína básica principal e a lisofosfolipase, são encontradas no eosinófilo e estão ausentes nos grânulos dos mastócitos.

As proteoglicanas, incluindo a heparina e o sulfato de condroitina, também são constituintes importantes dos grânulos dos mastócitos. Essas moléculas são compostas de um núcleo polipeptídico e de múltiplas cadeias laterais de glicosaminoglicanas não ramificadas que conferem uma forte carga negativa às moléculas. Junto aos grânulos, as proteoglicanas servem de matrizes de armazenamento para aminas positivamente carregadas, proteases e outros mediadores, e previnem sua acessibilidade ao restante da célula. Os mediadores são liberados das proteoglicanas a diferentes taxas após a exocitose dos grânulos, com as aminas vasoativas se dissociando muito mais rápido do que a triptase ou a quimase. Nesse sentido, as proteoglicanas podem controlar a cinética das reações de hipersensibilidade imediata.

Mediadores Lipídicos

A ativação dos mastócitos resulta na rápida síntese* de novo *e liberação de mediadores lipídicos que produzem uma variedade de efeitos sobre os vasos sanguíneos, músculo liso brônquico e leucócitos. Dentre os

mediadores, os mais importantes são os derivados do ácido araquidônico, gerado pela hidrólise PLA_2-mediada dos fosfolipídeos de membrana, como discutido antes. O ácido araquidônico então é metabolizado pelas vias da cicloxigenase ou da lipoxigenase, para produzir mediadores de reações alérgicas.

O principal mediador derivado do ácido araquidônico produzido pela via da cicloxigenase nos mastócitos é a **prostaglandina D2** (PGD_2). A PGD_2 liberada se liga aos receptores presentes nas células musculares lisas e atua como vasodilatador e broncoconstritor. A PGD_2 também promove quimiotaxia e acúmulo de neutrófilos em sítios inflamatórios. A síntese de PGD_2 pode ser prevenida pelos inibidores de cicloxigenase, como a aspirina e outros agentes anti-inflamatórios não esteroides. Esses fármacos podem paradoxalmente exacerbar a broncoconstrição asmática, por desviarem o ácido araquidônico para produção de leucotrienos (discutido a seguir).

Os principais mediadores derivados do ácido araquidônico produzidos pela via da lipoxigenase são os **leucotrienos**, especialmente o LTC_4 e seus produtos de degradação, LTD_4 e LTE_4, todos chamados cisteinil-leucotrienos. O LTC_4 é produzido por mastócitos e basófilos de mucosa, mas não é produzido por mastócitos do tecido conectivo. Os leucotrienos derivados de mastócitos se ligam a receptores específicos presentes em celulas musculares lisas, diferentemente dos receptores para PGD_2, e causam broncoconstrição prolongada. Coletivamente, os cisteinil-leucotrienos constituem aquilo que antigamente era chamado substância de reação lenta da anafilaxia (SRS-A, do inglês, *slow-reacting substance of anaphylaxis*) e hoje são considerados mediadores importantes da broncoconstrição asmática. Quando injetados na pele, esses leucotrienos produzem uma reação de pápula e eritema duradoura.

Um terceiro tipo de mediador lipídico produzido pelos mastócitos e basófilos, bem como por vários outros tipos celulares, é o fator ativador de plaquetas (PAF, do inglês, *platelet-activating factor*), assim nomeado por ter sido descoberto como indutor de agregação plaquetária em coelhos. O PAF é sintetizado como derivado de fosfolipídeos de membrana. Tem diferentes ações broncoconstritoras, causa retração das células endoteliais e relaxa o músculo liso vascular. Entretanto, o PAF é hidrofóbico e rapidamente destruído por uma enzima plasmática chamada PAF hidrolase, que limita suas ações biológicas. Indivíduos com deficiência hereditária de PAF hidrolase apresentam alto risco de desenvolvimento de asma precoce. Os níveis de PAF e seus metabólitos estão elevados na

anafilaxia. Em modelos experimentais com roedores, os inibidores farmacológicos dos receptores de PAF melhoram alguns aspectos da hipersensibilidade imediata no pulmão, contudo os antagonistas de PAF não se mostraram úteis em estudos clínicos. O PAF também pode ser importante em reações de fase tardia, nas quais pode ativar leucócitos inflamatórios.

Citocinas

Os mastócitos produzem muitas citocinas diferentes que contribuem para a inflamação alérgica (a reação de fase tardia). Essas citocinas incluem TNF, IL-1, IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-13, CCL3, CCL4 e fatores estimuladores de colônia, como IL-3 e fator estimulador de colônia de granulócito-macrófago (GM-CSF, do inglês, *granulocyte-macrophage colony-stimulating factor*). Como mencionado antes, a ativação do mastocito induz transcrição e síntese destas citocinas, porém o TNF pré-formado também pode ser armazenado em grânulos e rapidamente liberado mediante ligação cruzada de FcεRI. As células Th2 recrutadas para os sítios de reações alérgicas também produzem algumas dessas citocinas. As citocinas liberadas pelos mastócitos ativados, células Th2 e, possivelmente, ILCs são responsáveis principalmente pela inflamação associada à reação de fase tardia. O TNF ativa a expressão endotelial de moléculas de adesão que, junto com as quimiocinas, é responsável pelos infiltrados de neutrófilos e monócitos (Capítulo 3). Em adição à inflamação alérgica, as citocinas dos mastócitos também contribuem para as respostas inatas às infecções. Por exemplo, conforme discutiremos mais adiante, os modelos murinos indicam que os mastócitos são requeridos para a defesa efetiva contra algumas infecções bacterianas e esta função efetora é mediada em grande parte pelo TNF.

Propriedades dos Eosinófilos

Os eosinófilos são granulócitos derivados da medula óssea abundantes nos infiltrados inflamatórios de reações de fase tardia e estão envolvidos em muitos processos patológicos nas doenças alérgicas. GM-CSF, IL-3 e IL-5 promovem a diferenciação de eosinófilos a partir de precursores mieloides na medula óssea e, após a maturação, circulam no sangue. Os eosinófilos normalmente estão presentes nos tecidos periféricos, em especial nos revestimentos de mucosa dos tratos respiratório, gastrintestinal e geniturinário, e seus números podem ser aumentados pelo recrutamento no contexto de inflamação. Os grânulos dos eosinófilos

contêm proteínas básicas que se ligam a corantes ácidos, como a eosina (Tabela 20.2 e Fig. 20.2C).

As citocinas produzidas pelas células Th2 promovem a ativação de eosinófilos e seu recrutamento para os sítios de reação de fase tardia. Ambos, células Th2 e ILCs do tipo 2, são fontes de IL-5. A IL-5 é uma potente citocina ativadora de eosinófilos que intensifica a capacidade dos eosinófilos de liberar os conteúdos dos grânulos. Na ausência dessa citocina (p. ex.: em camundongos nocauteados para IL-5), existe uma deficiência numérica e funcional de eosinófilos. Os eosinófilos são recrutados para os sítios de reação de fase tardia, bem como para os sítios de infecção helmíntica, e seu recrutamento é mediado por uma combinação de interações de moléculas de adesão e quimiocinas. Os eosinófilos se ligam a células endoteliais que expressam E-selectina e VCAM-1 (ligante da integrina VLA-4). A IL-4 produzida pelas células Th2 pode intensificar a expressão de moléculas de adesão para os eosinófilos. O recrutamento e infiltração nos tecidos também depende da quimiocina eotaxina (CCL11) que é produzida por células epiteliais em sítios de reações alérgicas e se liga ao receptor de quimocina CCR3, expresso constitutivamente pelos eosinófilos. Em adição, o produto do complemento C5a e os mediadores lipídicos PAF e LTB_4 produzidos pelos mastócitos também atuam como quimioatraentes para eosinófilos.

Mediante ativação, os eosinófilos liberam proteínas dos grânulos que são tóxicas para os microrganismos e pode lesar os tecidos normais. Os conteúdos dos grânulos dos eosinófilos incluem hidrolases lisossômicas encontradas em outros granulócitos que são particularmente tóxicas para os organismos helmínticos, incluindo a proteína básica principal e a proteína catiônica do eosinófilo. Esses dois polipeptídeos catiônicos não têm atividades enzimáticas conhecidas, mas são tóxicos para helmintos e bactérias, bem como para o tecido normal. Em adição, os grânulos eosinofílicos contêm a peroxidase do eosinófilo, que difere da mieloperoxidase encontrada em neutrófilos e catalisa a produção de ácidos hipocloroso ou hipobromoso. Esses produtos também são tóxicos para helmintos, protozoários e células do hospedeiro.

Eosinófilos ativados, assim como mastócitos e basófilos, produzem e liberam mediadores lipídicos, incluindo PAF, prostaglandinas e cisteinil-leucotrienos. Os mediadores lipídicos derivados dos eosinófilos podem contribuir para os processos patológicos de doenças alérgicas. Os eosinófilos também produzem várias citocinas que podem promover respostas inflamatórias e reparo tecidual, porém a importância biológica da produção de citocinas derivadas dos eosinófilos é indeterminada.

Reações Dependentes de IgE e de Mastócitos

As células e mediadores até então discutidos são responsáveis pelas alterações vasculares imediatas e pelas reações inflamatórias tardias que ocorrem nas alergias. Nas próximas seções, descreveremos estas reações imediatas e de fase tardia (Fig. 20.7).

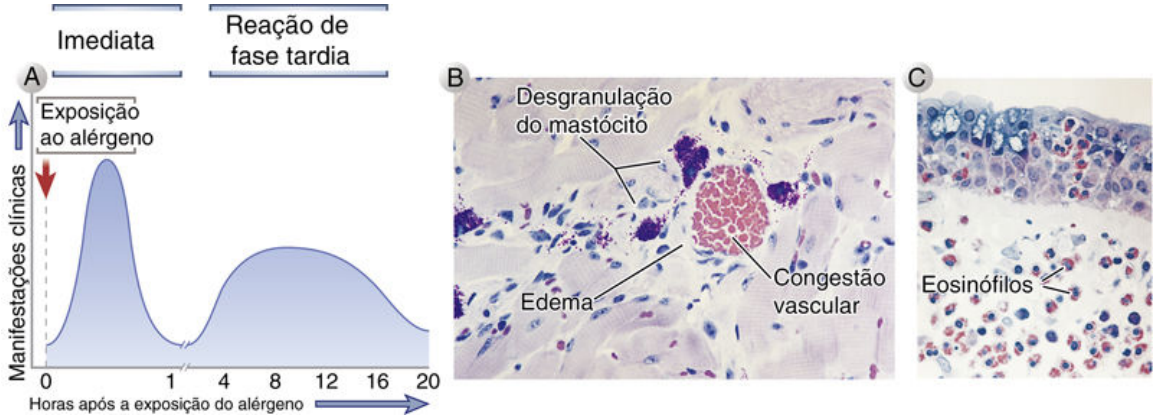


FIGURA 20.7 Reações imediata e de fase tardia da alergia. **A,** Cinética. A reação imediata da vasculatura e da musculatura lisa ao alérgeno se desenvolve minutos após o desafio (exposição ao alérgeno em indivíduo previamente sensibilizado), e a reação de fase tardia se desenvolve após 2-24 horas. **B** e **C,** Morfologia. A reação imediata **(B)** é caracterizada por vasodilatação, congestão e edema, e a reação de fase tardia **(C)** é caracterizada por um infiltrado inflamatório rico em eosinófilos, neutrófilos e células T. (Cortesia de Dr. Daniel Friend, Department of Pathology, Brigham and Women's Hospital, Boston, Massachusetts.)

Reação Imediata

As alterações vasculares iniciais que ocorrem durante as reações de hipersensibilidade imediata são demonstradas pela reação de pápula e eritema à injeção intradérmica de um alérgeno (Fig. 20.8). Quando um indivíduo que encontrou previamente um alérgeno e produziu anticorpo IgE é desafiado pela injeção intradérmica do mesmo antígeno, o sítio de injeção se torna avermelhado em consequência dos vasos sanguíneos

localmente dilatados ingurgitados de hemácias. O sítio então incha rapidamente como resultado do extravasamento plasmático das vênulas. Esse leve inchaço é denominado **pápula** e pode envolver uma área cutânea que mede alguns centímetros de diâmetro. Subsequentemente, os vasos sanguíneos nas margens da pápula dilatam e se tornam ingurgitados com hemácias, produzindo uma borda vermelha característica chamada **eritema**. A reação completa de pápula e eritema pode surgir em 5-10 minutos após a administração do antígeno e geralmente desaparece em menos de 1 hora.

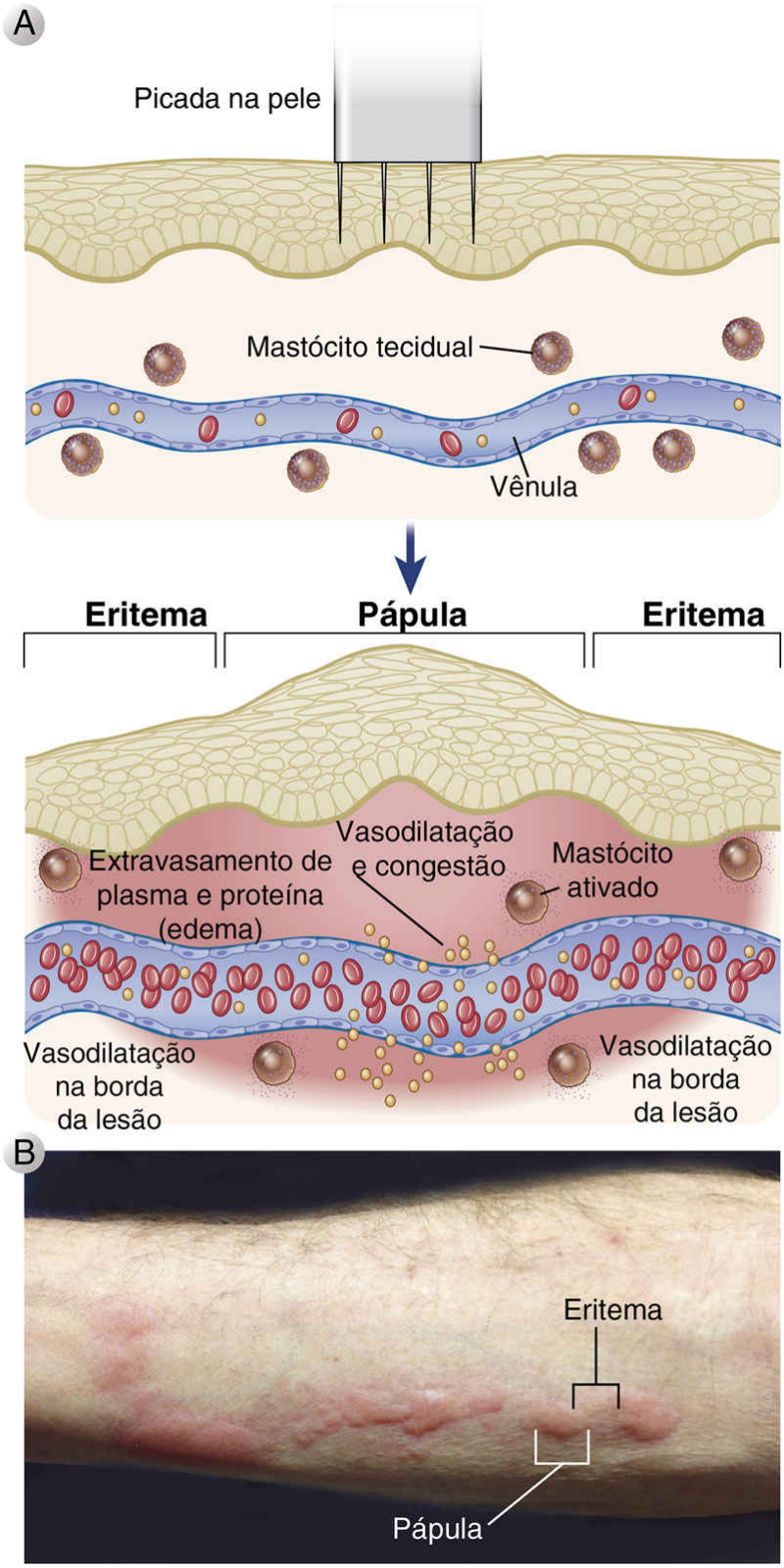


FIGURA 20.8 Reação de pápula e eritema na pele e testes cutâneos de alergia.

A, Em um teste clínico para alergias, diferentes antígenos são

introduzidos na pele usando agulhas pequenas. Pacientes com alergias a um antígeno já terão IgE antígeno-específica ligada aos mastócitos na pele e estes serão ativados. Em resposta à liberação antígeno-estimulada de mediadores de mastócitos, os vasos sanguíneos primeiramente dilatam e, então, passam a vazar fluido e macromoléculas, produzindo vermelhidão e inchaço local (pápula). A subsequente dilatação dos vasos na borda do inchaço confere o aspecto de uma orla avermelhada (o eritema). **B,** Fotografia de um teste cutâneo de alergia positivo, mostrando reações de pápula e eritema na pele em resposta à injeção de alérgenos. (Cortesia de Dr. David Sloane, Department of Medicine, Brigham and Women's Hospital, Boston, MA.)

A reação de pápula e eritema depende de IgE e de mastócitos. O exame histológico mostra que os mastócitos presentes na área de pápula e eritema libera mediadores pré-formados, ou seja, seus grânulos citoplasmáticos são descarregados. Uma associação causal da IgE e mastócitos com a hipersensibilidade imediata foi deduzida pela primeira vez a partir de experimentos envolvendo a transferência passiva de anticorpos IgE de um indivíduo alérgico para um recebedor normal. Exemplificando, a reação de hipersensibilidade imediata contra um alérgeno pode ser elicitada em indivíduos irresponsivos, se o sítio cutâneo local for injetado primeiro com IgE oriunda de um indivíduo alérgico. Esses experimentos de transferência adotiva foram realizados pela primeira vez com o soro de indivíduos imunizados e o fator sérico responsável pela reação originalmente era chamado reagina. Por esse motivo, as moléculas de IgE às vezes ainda são chamadas anticorpos reagínicos. A reação cutânea antígeno-iniciada que segue a transferência adotiva de IgE é chamada anafilaxia cutânea passiva.

A reação de pápula e eritema resulta da sensibilização de mastócitos dérmicos pela ligação da IgE ao FcεRI, ligação cruzada de IgE pelo antígeno, e ativação de mastócitos com liberação de mediadores, notavelmente a histamina. A histamina se liga aos receptores de histamina presentes nas células endoteliais venulares; as células endoteliais sintetizam e liberam PGI_2 e óxido nítrico, e esses mediadores causam vasodilatação e extravazamento vascular, como já descrito. Os mastócitos cutâneos parecem produzir apenas pequenas quantidades de mediadores de ação prolongada, como os leucotrienos, de modo que a resposta de pápula e eritema desaparece rapidamente. Os especialistas em alergia costumam submeter os pacientes a testes de alergia a diferentes antígenos, avaliando a habilidade destes antígenos de deflagrar reações de pápula e eritema quando aplicados na pele como adesivos ou através de picadas com agulhas pequenas.

Reação de Fase Tardia

Decorridas 2-4 horas da reação imediata de pápula e eritema, observa-se uma reação de fase tardia que consiste no acúmulo de leucócitos inflamatórios, incluindo neutrófilos, eosinófilos, basófilos e células T auxiliares (Fig. 20.7). A inflamação é máxima por volta de 24 horas e, então, desaparece gradativamente. Assim como a reação imediata de pápula e eritema, a capacidade de montar uma reação de fase tardia também pode ser adotivamente transferida pela IgE, e a reação pode ser mimetizada com anticorpos anti-IgE que fazem ligação cruzada com receptores FcεRI em mastócitos com IgE ligada, ou com agentes ativadores de mastócito. As citocinas produzidas pelos mastócitos, incluindo TNF, regulam positivamente a expressão endotelial de moléculas de adesão leucocitárias, como E-selectina e molécula de adesão intercelular 1 (ICAM-1), bem como de quimiocinas, resultando no recrutamento de leucócitos sanguíneos (Capítulo 3). Assim, a ativação dos mastócitos promove o influxo de leucócitos para os tecidos. Os tipos de leucócitos típicos das reações de fase tardia são eosinófilos e células T auxiliares. Embora as células Th2 sejam a população de célula T dominante nas reações de fase tardia sem complicação, os infiltrados celulares na dermatite atópica crônica e na asma contêm células Th1 e Th17, bem como células T produtoras de IL-17 e IFN-γ. Os neutrófilos frequentemente também estão presentes nessas reações. Eosinófilos e células Th2 expressam, ambos, CCR4 e CCR3, sendo que as quimiocinas que se ligam a esses receptores são produzidas por muitos tipos celulares em sítios de reações de hipersensibilidade imediata, incluindo as células epiteliais.

A reação de fase tardia pode ocorrer sem nenhuma reação de hipersensibilidade imediata precedente detectável. A asma brônquica é uma doença em que podem ocorrer ataques repetidos de inflamação com acúmulos de eosinófilos e células Th2, na ausência das alterações vasculares características da resposta imediata. Nesses distúrbios, pode haver pouca ativação de mastócitos, e as citocinas que sustentam a reação de fase tardia podem ser produzidas principalmente pelas células T.

Suscetibilidade Genética à Doença Alérgica

A propensão ao desenvolvimento de alergias é influenciada pela herança de vários genes. Níveis anormalmente elevados de síntese de IgE e atopia associada ocorrem com frequência em famílias. Estudos familiares demonstraram uma nítida transmissão autossômica da atopia, embora o padrão de herança integral seja multigênico. Dentro da mesma família, o órgão-alvo da doença atópica é variável. Assim, a dermatite atópica (eczema) pode estar presente em graus variados em diversos membros da mesma família. Todos esses indivíduos, porém, podem apresentar níveis plasmáticos de IgE acima da média.

Diversas abordagens foram conduzidas para identificar genes que trouxessem risco de doenças alérgicas, incluindo clonagem posicional, estudos de genes candidatos e estudos de associação genômica. As abordagens identificaram muitas variantes gênicas diferentes que conferem suscetibilidade aumentada à asma e a outras doenças atópicas (Tabela 20.3). Com base nas funções conhecidas das proteínas codificadas por muitos desses genes, é possível fazer especulações racionais sobre como a expressão ou atividade alterada das proteínas poderia exercer impacto sobre o desenvolvimento ou gravidade das doenças alérgicas. Mesmo assim, ainda sabemos muito pouco sobre a possibilidade de os polimorfismos genéticos associados ao risco aumentado de alergia alterarem ou não a expressão ou função das proteínas codificadas e, em muitos casos, não está claro como a função de muitas proteínas codificadas poderia ter impacto sobre o desenvolvimento da alergia.

Tabela 20.3

Exemplos de Genes Associados com Atopia e Asma

Gene Candidato ou Proteína Codificada	Localização Cromossômica	Associação com Doença	Papel Putativo de Produtos Gênicos na Doença
Genes no agrupamento do gene de citocinas (IL-4, IL-5, IL-13), CD14, receptor β_2-adrenérgico	5q	Asma	IL-4 e IL-13 promovem troca de IgE; IL-5 promove crescimento e ativação de eosinófilos; CD14 é um componente do receptor de LPS que, por meio da interação com TLR4, pode influenciar o equilíbrio entre as respostas Th1 e Th2 aos antígenos; o receptor β_2-adrenérgico regula a contração muscular lisa brônquica
MHC classe II	6p	Asma	Alguns alelos podem regular as respostas de célula T aos alérgenos
Cadeia β de FcεRI	11q	Asma	Medeia a ativação de mastócitos
Fator da célula-tronco, interferon-γ, STAT6	12q	Asma	O fator de célula-tronco regula o crescimento e diferenciação de mastócitos; o interferon-γ contrapõe as ações da IL-4; STAT6 medeia a transdução de sinal de IL-4
Cadeia α do receptor de IL-4	16	Asma	Subunidade dos receptores de IL-4 e de IL-13
ADAM33	20p	Asma	Metaloproteinase envolvida no remodelamento das vias respiratórias
DPP10	2q14	Asma	Peptidase que pode regular a atividade de quimiocina e citocina
PHF11	13q	Asma	Regulador transcricional de genes Th1
ORMDL3	17q	Asma	Resposta de estresse do retículo endoplasmático
IL-33, receptor de IL-1-símile 1 (receptor de IL-33)	2q	Asma	A IL-33 induz citocinas do tipo 2 nas células T, mastócitos, eosinófilos, ILCs
Fosfodiesterase 4D	5q	Asma	Degrada cAMP e regula a contratilidade da musculatura lisa das vias aéreas
Filagrina	1q	Dermatite atópica	Componente de queratinócitos terminalmente diferenciados importante para a função de barreira epitelial

ADAM33, *disintegrin and metalloprotease domain* 33; DPP10, *dipeptidyl peptidase like* 10; FcεRI, *receptor Fcε tipo I;* Ig, *imunoglobulina;* ILCs, *innate lymphoid cells;* MHC, *complexo principal de histocompatibilidade;* ORMDL3, *orosomucoid like* 3; PHF11, *plant homeodomain finger protein* 11; TLR, *Toll-like receptors.*

Um dos primeiros achados significativos dos estudos genéticos de alergia foi a identificação de um *locus* de suscetibilidade à atopia no cromossomo 5q, perto do sítio do agrupamento gênico codificador das citocinas IL-4, IL-5, IL-9 e IL-13, e do receptor de IL-4. Essa região é de grande interesse devido à conexão entre os vários genes nela localizados e aos mecanismos de regulação da IgE e do crescimento e diferenciação de mastócitos e eosinófilos. Entre os genes contidos nesse agrupamento, os polimorfismos no gene *IL33* parecem ter a associação mais forte com a asma. Os *loci* contendo genes codificadores de IL-33, um componente do receptor de IL-33 (IL1R1), e o fator de transcrição RORα foram identificados em um estudo de associação genômica ampla de genes de suscetibilidade à asma. Conforme discutido antes, a IL-33 é uma citocina liberada por células epiteliais danificadas e é um potente indutor de inflamação do tipo 2, em que células Th2 e ILCs do tipo 2 liberam IL-5 e IL-13. RORα é requerido para diferenciação de ILC2.

Mutações que resultam em perda da expressão ou função da proteína filagrina resultam em risco significativo de desenvolvimento de dermatite atópica na fase de lactação, e em doenças alérgicas subsequentes, entre as quais a asma. Conforme mencionado, a filagrina é requerida para as funções de barreira cutânea e retenção de água, sendo considerado que sua falta promove dano aos queratinócitos e liberação de citocinas, bem como entrada de alérgeno na derme.

Alguns genes cujos produtos regulam a resposta imune inata a infecções foram associados à alergia e à asma. Entre esses produtos, estão o CD14 (um componente do receptor de lipopolissacarídeo), TLR2 e TLR4. Como as respostas inatas a muitas infecções geralmente favorecem o desenvolvimento de respostas Th1 e inibem respostas Th2 (Capítulo 10), é possível que polimorfismos ou mutações em genes que resultem em respostas inatas intensificadas ou diminuídas a organismos infecciosos comuns influenciem o risco de desenvolvimento de atopia. Outros estudos de associação genômica ampla encontraram associações significativas de variantes comuns de numerosos outros genes com a asma e outras doenças atópicas. Entretanto, ou os produtos desses genes têm função desconhecida, ou a conexão entre suas funções conhecidas e o desenvolvimento de doença atópica é indeterminada.

Fatores Ambientais na Alergia

Está claro que as influências ambientais exercem impacto significativo sobre o desenvolvimento de alergia e sinergizam com os fatores de risco genéticos. As influências ambientais incluem a exposição aos próprios alérgenos em si, a organismos infecciosos e, possivelmente, a outros fatores que tenham impacto sobre a função de barreira da mucosa, como a poluição do ar. Além disso, o tempo de vida quando da ocorrência de exposição a esses fatores ambientais, especialmente a exposição nas primeiras fases da vida, parece ser importante.

A exposição a microrganismos durante a fase de lactação pode diminuir o risco de desenvolvimento de alergias. Uma possível explicação para a prevalência aumentada de asma e outras doenças atópicas em países industrializados é que a frequência de infecções nesses países geralmente é menor. Vários dados epidemiológicos mostram que, na fase de lactação, a exposição a microrganismos ambientais como aqueles encontrados em fazendas e não nas cidades está associada à prevalência diminuída de doença alérgica. Com base nesses dados, foi proposta a **hipótese da higiene**, segundo a qual a exposição durante as primeiras fases da vida e até mesmo a exposição perinatal aos comensais intestinais e a infecções leva ao amadurecimento regulado do sistema imune, e talvez ao desenvolvimento inicial de células T reguladoras. Como resultado, mais tardiamente na vida, esses indivíduos tendem menos a montar respostas Th2 a antígenos ambientais não infecciosos e a desenvolverem doenças alérgicas.

A infecções respiratórias virais e bacterianas constituem um fator predisponente ao desenvolvimento de asma ou exacerbações de asma preexistente. Exemplificando, estima-se que as infecções respiratórias virais precedam até 80% das crises de asma em crianças. Isso pode parecer contraditório à hipótese da higiene, contudo as infecções asma-associadas são causadas por patógenos humanos que podem danificar as barreiras de mucosa pulmonar, enquanto os dados que sustentam a hipótese da higiene enfocam a exposição a uma ampla gama de bactérias ambientais não necessariamente relacionadas à lesão tecidual. Alguns estudos epidemiológicos indicam que uma falha de certos microrganismos comensais particulares em colonizar o trato respiratório ou o trato GI nas primeiras fases da vida pode aumentar o risco de infecções respiratórias virais que induzem asma.

Doenças Alérgicas em Seres Humanos, Patogênese e Terapia

As manifestações de doenças alérgicas dependem dos tecidos em que atuam os mediadores dos mastócitos e as citocinas do tipo 2, bem como da cronicidade do processo inflamatório resultante. Indivíduos atópicos podem ter um ou mais tipos de alergia e as formas mais comuns são a rinite alérgica, asma brônquica, dermatite atópica e alergias alimentares. As características clínicas e patológicas das reações alérgicas variam com o sítio anatômico da reação, por diversos motivos. O ponto de contato com o alérgeno pode determinar os órgãos ou tecidos onde os mastócitos e células Th2 são ativados. Por exemplo, antígenos inalados causam rinite ou asma, antígenos ingeridos costumam causar vômito e diarreia (mas também podem produzir sintomas cutâneos e respiratórios, se doses grandes forem ingeridas), e antígenos injetados produzem efeitos sistêmicos sobre a circulação. A concentração de mastócitos em vários órgãos-alvo influencia a gravidade das respostas. Os mastócitos são particularmente abundantes na pele e mucosa dos tratos respiratório e gastrintestinal, e esses tecidos frequentemente sofrem a maior parte da lesão durante as reações de hipersensibilidade imediata. O fenótipo do mastócito local pode influenciar as características da reação de hipersensibilidade imediata. Exemplificando, os mastócitos do tecido conectivo produzem histamina em abundância e são responsáveis pelas reações de pápula e eritema na pele.

Na próxima seção, discutiremos as principais características das doenças alérgicas manifestadas em diferentes tecidos.

Anafilaxia Sistêmica

A anafilaxia é uma reação de hipersensibilidade imediata sistêmica caracterizada por edema em muitos tecidos e diminuição da pressão arterial secundária à vasodilatação e ao extravasamento vascular. Esses efeitos geralmente resultam da presença sistêmica do antígeno introduzido por injeção (p. ex.: uma picada de inseto) ou da absorção ao longo de uma superfície epitelial como a mucosa intestinal. Os alérgenos que mais frequentemente causam anafilaxia incluem os antibióticos da família da penicilina, além das proteínas encontradas no amendoim, nozes de árvores, peixes, mariscos, leite, ovos e veneno de abelha, porém existem

muitos outros fármacos, alimentos e culpados ambientais. O alérgeno ativa os mastócitos em muitos tecidos, resultando na liberação de mediadores que ganham acesso aos leitos vasculares em todo o corpo. A diminuição do tônus vascular e o extravasamento de plasma causado pelos mediadores dos mastócitos podem acarretar uma significativa queda na pressão arterial, ou choque, chamado choque anafilático, que frequentemente é fatal. Os mediadores dos mastócitos podem comprometer a respiração causando edema de laringe, broncoconstrição e produção excessiva de muco brônquico. Frequentemente, há diarreia devido à hipermotilidade intestinal ou efusão de muco no intestino, além de lesões urticariformes (urticária) na pele. A anafilaxia geralmente ocorre em segundos a uma hora de exposição ao alérgeno. Em cerca de 20% dos pacientes, uma segunda recorrência dos sintomas é vista na ausência de re-exposição comprovada ao alérgeno, em até 12 horas após o primeiro episódio. Isso muitas vezes é chamado reação anafilática de fase tardia, mas não deve ser confundido com a resposta de fase tardia ao alérgeno discutida anteriormente. Não é sabido quais mediadores dos mastócitos são mais importantes no choque anafilático. A base do tratamento é a epinefrina (adrenalina) sistêmica, que pode salvar vidas revertendo os efeitos broncoconstritores e vasodilatadores dos mediadores dos mastócito. A epinefrina também melhora o débito cardíaco, auxiliando adicionalmente a sobrevivência a partir do colapso circulatório ameaçado. Os anti-histamínicos também podem ser benéficos na anafilaxia, sugerindo um papel para a histamina nessa reação.

Asma Brônquica

A asma inclui um grupo de doenças pulmonares caracterizadas pela obstrução recorrente e reversível do fluxo de ar e pela hiperresponsividade da célula muscular lisa brônquica, mais frequentemente causada por repetidas reações de hipersensibilidade imediata e reações alérgicas de fase tardia (Fig. 20.9). Os pacientes sofrem paroxismos por broncoconstrição e produção aumentada de muco espesso, o que leva à obstrução brônquica e acarreta dificuldades respiratórias. A asma em adultos frequentemente coexiste com a doença pulmonar obstrutiva crônica e a combinação dessas doenças pode causar uma obstrução grave e irreversível do fluxo de ar. Os indivíduos afetados podem apresentar considerável morbidade e a asma pode ser fatal. A asma afeta cerca de 20 milhões de pessoas nos Estados Unidos, e a frequência dessa doença aumentou significativamente ao longo dos últimos 30-40 anos. A taxa de

prevalência é similar àquela observada em outros países industrializados, mas pode ser menor nas áreas menos desenvolvidas do mundo.

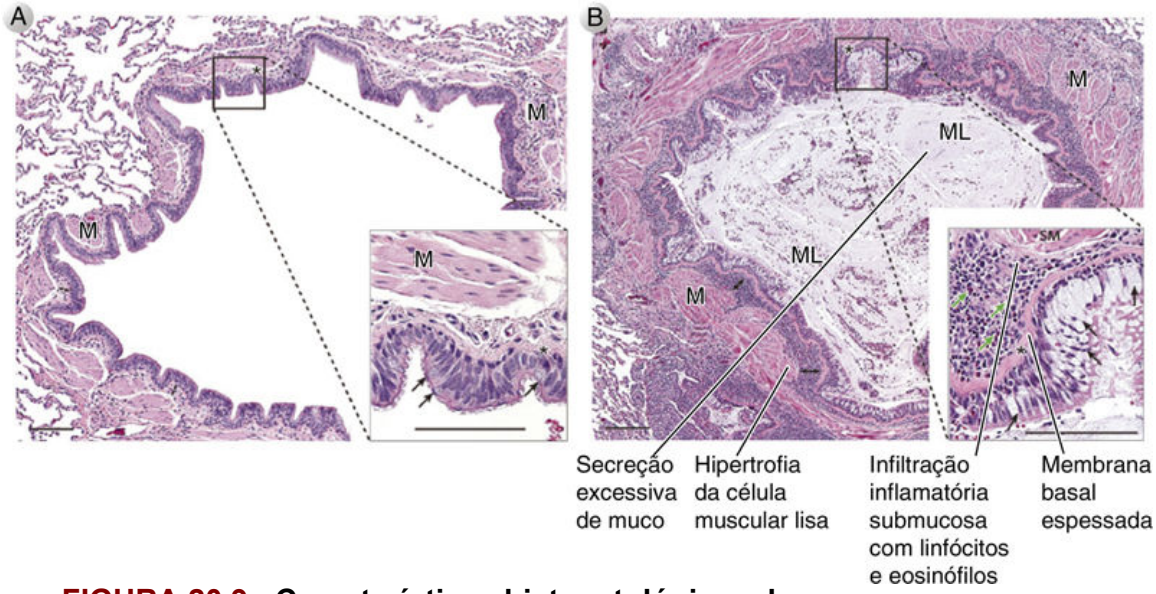


FIGURA 20.9 Características histopatológicas da asma brônquica.
A asma brônquica atópica resulta de reações de hipersensibilidade imediata nos pulmões com reações de fase tardia crônicas. Um corte transversal de um brônquio normal **(A)** e um corte transversal de um brônquio de um paciente com asma **(B)** são mostrados. O brônquio adoecido exibe produção excessiva de muco (M), numerosas células inflamatórias submucosas (incluindo eosinófilos) e hipertrofia muscular lisa (ML), além de um número muito maior de células globosas do que o observado no brônquio normal (*setas pretas nos destaques*). (De Galli SJ, Tsai M, Piliponsky AM: The development of allergic inflammation, Nature 454:445–454, 2008. Cortesia de G. J. Berry, Stanford University, California.)

Aproximadamente 70% dos casos de asma estão associados a reações mediadas por IgE refletindo atopia. Nos 30% de pacientes restantes, a asma pode ser deflagrada por estímulos não imunes, como fármacos, frio e exercício. Mesmo entre os asmáticos não atópicos, o processo fisiopatológico da constrição das vias respiratórias é similar, sugerindo que os mecanismos alternativos da degranulação dos mastócitos (p. ex.: neurotransmissores produzidos localmente) pode estar por trás da doença.

A sequência fisiopatológica na asma atópica é provavelmente iniciada pela ativação dos mastócitos em resposta à ligação do alérgeno à IgE, bem como pelas células Th2 que reagem aos alérgenos (Fig. 20.10). Os

mediadores lipídicos e citocinas produzidas pelos mastócitos e células T levam ao recrutamento de eosinófilos, basófilos e mais células Th2. A inflamação crônica nessa doença pode continuar na ausência de ativação de mastócitos. Há evidências experimentais de que outras subpopulações de células T, incluindo células Th1 e Th17, bem como células T secretoras de IL-9, contribuem para a patologia da doença estabelecida. A hipertrofia e hiperatividade das células musculares lisas são consideradas resultantes de citocinas e mediadores derivados de leucócitos. Mastócitos, basófilos e eosinófilos são todos produtores de mediadores que promovem a constrição da musculatura lisa das vias respiratórias. Os mediadores de broncoconstrição mais importantes são os cisteinil-leucotrienos. Os antagonistas da síntese de LTC_4 ou antagonistas do receptor de leucotrieno diminuem a constrição das vias respiratórias induzida pelo alérgeno. A secreção aumentada de muco resulta da ação de citocinas, principalmente a IL-13, sobre as células epiteliais brônquicas.

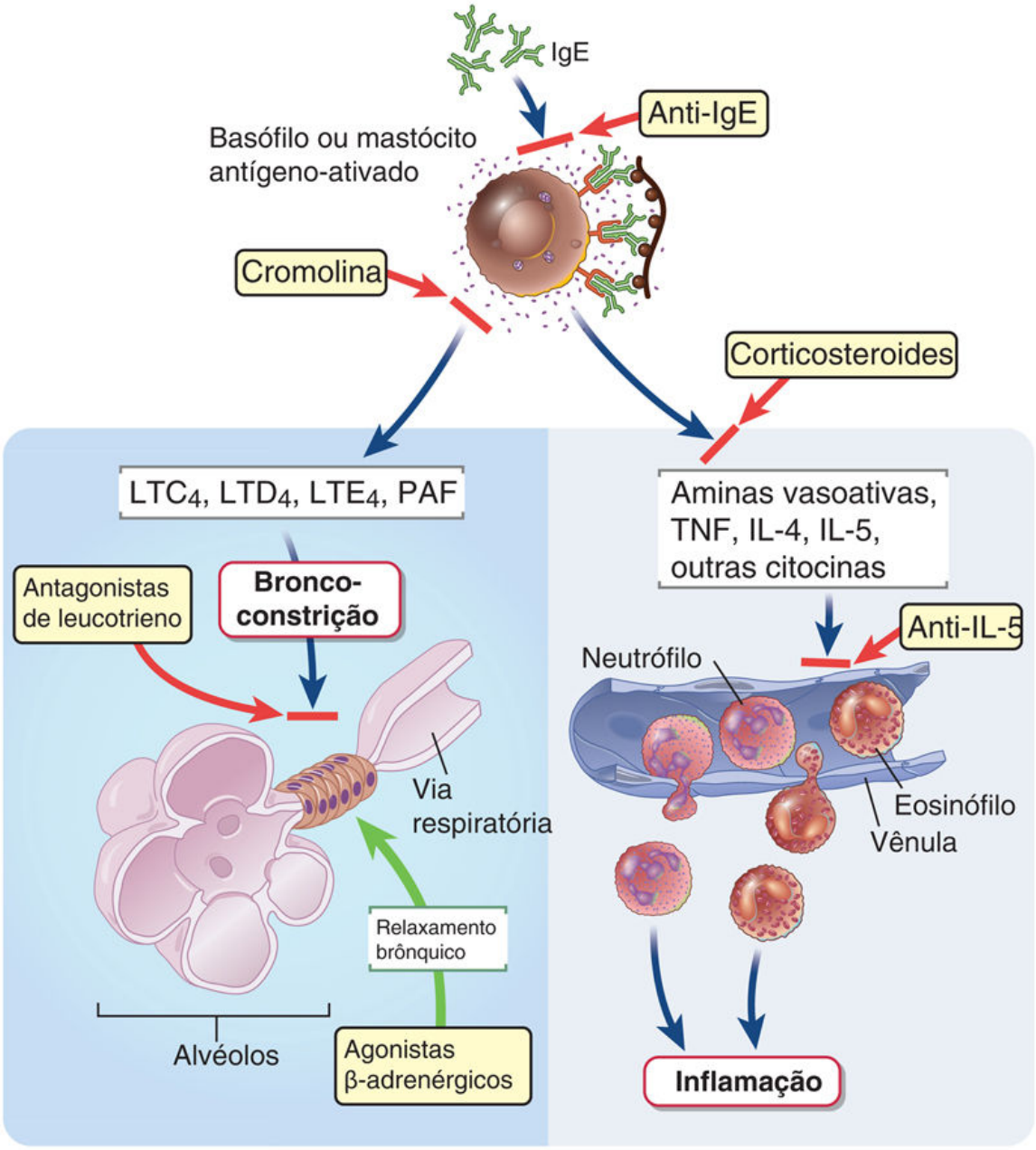


FIGURA 20.10 Mediadores e tratamento da asma.
O PAF e os leucotrienos derivados dos mastócitos são considerados os principais mediadores de broncoconstrição aguda. A terapia objetiva diminuir a ativação dos mastócitos com anti-IgE, a desgranulação de mastócitos com inibidores como a cromolina, e também visa contrapor as ações dos mediadores na musculatura lisa brônquica por meio de antagonistas de leucotrienos e broncodilatadores, como os agonistas de receptor β-adrenérgico inalados. As citocinas derivadas de mastócitos são consideradas os principais mediadores da inflamação contínua das vias respiratórias, a qual exemplifica uma reação de fase tardia; a terapia com corticosteroide é usada para inibir a síntese de citocina, enquanto

os anticorpos são usados para bloquear as ações das citocinas. As citocinas também são produzidas por celulas T auxiliares *(não mostrado)*.

A terapia vigente para asma tem dois alvos principais: prevenção e reversão da inflamação, e relaxamento da musculatura lisa das vias respiratórias (Fig. 20.10). Várias classes de fármacos são usadas atualmente para tratar a asma, porém os agentes anti-inflamatórios são hoje o modo de tratamento primário. Os corticosteroides inalados bloqueiam a produção de citocinas inflamatórias. Os corticosteroides também podem ser administrados sistemicamente, especialmente na iminência de uma crise, para minimizar a inflamação. O relaxamento da célula muscular lisa brônquica é conseguido principalmente com fármacos que elevam os níveis intracelulares de monofosfato de adenosina cíclico (cAMP, do inglês, *cyclic adenosine monophosphate*), que inibe a contração. Os principais fármacos usados para aumentar o cAMP são ativadores de adenilato ciclase, incluindo os agonistas β_2-adrenérgicos de longa duração. Os antagonistas de receptor de leucotrieno bloqueiam a ligação dos leucotrienos broncoconstritores aos receptores localizados nas células musculares lisas das vias respiratórias. Um anticorpo monoclonal anti-IgE humanizado é uma terapia aprovada que diminui efetivamente os níveis séricos de IgE nos pacientes. Um anticorpo monoclonal anti-IL5 é aprovado para uso em casos de asma grave refratária a outros tratamentos. Um anticorpo que bloqueia a IL-13 é aprovado para uso em uma subpopulação de pacientes com asma que apresentam fortes respostas imunes do tipo 2. Esse é um excelente exemplo de medicina de precisão, em que marcadores para respostas do tipo 2 são usados para identificar o paciente mais propenso a ser beneficiado pela terapia com antagonismo de citocina do tipo 2. Como a histamina exerce papel mínimo na constrição das vias respiratórias, os anti-histamínicos (antagonistas de receptor H1) são inúteis no tratamento da asma. De fato, como muitos anti-histamínicos também são anticolinérgicos, esses fármacos podem piorar a obstrução das vias aéreas por causarem espessamento das secreções de muco.

Reações de Hipersensibilidade Imediata no Trato Respiratório Superior, no Trato Gastrintestinal e na Pele

A **rinite alérgica**, também chamada febre do feno, talvez seja a doença alérgica mais prevalente, e é uma consequência das reações de

hipersensibilidade imediata a alérgenos comuns, como o pólen de planta ou ácaros da poeira doméstica, localizadas no trato respiratório superior por inalação. As manifestações patológicas e clínicas incluem edema de mucosa, infiltração leucocitária com abundância de eosinófilos, secreção de muco, tosse, espirros e dificuldade respiratória. A conjuntivite alérgica com coceira nos olhos comumente está associada à rinite. Projeções focais da mucosa nasal, chamadas pólipos nasais, cheias de fluido de edema e eosinófilos, podem se desenvolver em pacientes que sofrem de crises repetitivas frequentes de rinite alérgica. Os anti-histamínicos são comumente usados para tratar a rinite alérgica.

As **alergias alimentares** são reações de hipersensibilidade imediata a alimentos ingeridos, levando à liberação de mediadores por mastócitos de mucosa e submucosa intestinal do trato gastrintestinal, incluindo a orofaringe. As manifestações clínicas resultantes são prurido, edema tecidual, peristaltismo aumentado, secreção aumentada de fluido epitelial e sintomas associados ao inchaço orofaríngeo, vômito e diarreia. Rinite, urticária e broncoespasmo leve também estão frequentemente associados a reações alérgicas a alimentos, sugerindo exposição antigênica sistêmica, e a anafilaxia ocasionalmente pode ocorrer. Foram descritas reações alérgicas a muitos tipos diferentes de alimentos; alguns dos mais comuns são amendoim e mariscos. Os indivíduos podem ser sensíveis o suficiente a esses alérgenos para que ocorram reações sistêmicas graves em resposta a pequenas ingestas acidentais.

As reações alérgicas comuns na pele incluem **urticária** e **dermatite atópica**. A urticária é uma reação de pápula e eritema aguda induzida por mediadores de mastócitos, e ocorre em resposta ao contato local direto com um alérgeno ou após a entrada do alérgeno na circulação. Como a reação que se segue é mediada em grande parte pela histamina, os anti-histamínicos podem atenuar essa resposta e constituem a base da terapia. A urticária pode persistir por várias horas ou dias. A dermatite atópica (comumente chamada **eczema**) é parte da tríade atópica (dermatite atópica, rinite alérgica e asma), mas também pode ocorrer isoladamente. Trata-se de um distúrbio cutâneo comum, muitas vezes associado a mutações na filagrina, resultando em uma função defeituosa de barreira cutânea. Como resultado, há exposição aumentada a antígenos ambientais e ativação de queratinócitos para secreção de citocinas que promovem respostas imunes do tipo 2. Pacientes com eczema progridem desenvolvendo reações de fase tardia crônicas na pele. Alguns pacientes com dermatite atópica desenvolvem asma, uma sequência a que os clínicos se referem como “marcha atópica”. Como seria esperado para uma

resposta mediada por citocinas, a reação inflamatória de fase tardia não é inibida por anti-histamínicos, mas pode ser tratada com corticosteroides que inibem a síntese de citocinas. Um anticorpo dirigido contra a subunidade compartilhada dos receptores de IL-4 e de IL-13 se mostrou efetivo em ensaios clínicos em uma subpopulação de pacientes com dermatite atópica.

Imunoterapia Específica ("Dessensibilização") para Doenças Alérgicas

Em adição à terapia voltada para as consequências da hipersensibilidade imediata, anteriormente discutida, os imunologistas clínicos tentam com frequência minimizar o aparecimento das reações alérgicas alterando a resposta imune alérgeno-específica no paciente. Vários protocolos de imunoterapia empírica têm sido usados, os quais induzem múltiplas alterações imunológicas que podem ser responsáveis pelo benefício clínico. Em uma abordagem, chamada **dessensibilização**, ou imunoterapia específica, ou ainda "vacinas para alergia", pequenas quantidades de antígeno são repetidamente administradas por via subcutânea. Uma variação dessa abordagem consiste em administrar o antígeno por via sublingual. Como resultado desse tratamento, os níveis de IgE específica caem e os títulos de IgG costumam subir, talvez inibindo ainda mais a produção de IgE via neutralização do antígeno e por feedback de anticorpo (Capítulo 12). É possível que a dessensibilização possa atuar induzindo tolerância à célula T específica ou modificando o fenótipo predominante das células T antígeno-específicas, de Th2 para Th1; entretanto, não há evidência clara que sustente qualquer uma dessas hipóteses. Os efeitos benéficos da dessensibilização podem ocorrer em questão de horas, muito antes do que as alterações nos níveis de IgE. O mecanismo preciso é desconhecido, mas essa abordagem foi efetiva em prevenir as respostas anafiláticas agudas aos antígenos proteicos (p. ex.: veneno de inseto) ou fármacos essenciais (p. ex.: penicilina). Embora muitas pessoas com condições atópicas crônicas mais comuns, como a febre do feno e a asma, sejam beneficiadas pela terapia de dessensibilização, a efetividade geral para os distúrbios alérgicos é mais variável. Agora, é possível identificar os alérgenos que se ligam à IgE em cada paciente, usando ensaios de ligação de anticorpo à base de *chip*, e isso pode facilitar enormemente o desenvolvimento da imunoterapia antígeno-específica.

Alimentar desde muito cedo as crianças com pequenas quantidades de alimentos contendo amendoim diminui o desenvolvimento de alergia ao amendoim em fases posteriores da vida. Essa descoberta recente tem levado à recomendação de uma abordagem preventiva para todas as crianças com risco de desenvolvimento de alergia ao amendoim (p. ex.: crianças com forte histórico familiar). Não é sabido se esse tratamento induz tolerância em linfócitos específicos para antígenos do amendoim ou como isso "reinicia" o sistema imune para diminuir as reações alérgicas.

Os Papéis Protetores das Reações Imunes Mediadas por IgE e por mastócitos

Embora a maioria do nosso conhecimento sobre as reações mediadas por IgE e por mastócito seja proveniente da análise da hipersensibilidade imediata, é razoável afirmar que essas respostas evoluíram por fornecerem funções protetoras. Essa consideração é sustentada pela correlação de algumas infecções com níveis altos de IgE e eosinofilia. Estudos realizados com camundongos deficientes em IgE, citocinas Th2 ou mastócitos forneceram evidência de que as respostas mediadas por IgE e mastócitos são importantes para a defesa contra certos tipos de infecção.

As reações imunes iniciadas por IgE podem contribuir para a erradicação de vários microrganismos, inclusive parasitas helmínticos. O *killing* eosinófilo-mediado de helmintos é uma defesa efetiva contra estes organismos (Capítulo 10). Algumas evidências indicam que as atividades de IL-4 e IL-13 na produção de IgE, e a de IL-5 na ativação do eosinófilo contribuem para uma defesa coordenada contra helmintos. Além disso, a ativação IgE-dependente dos mastócitos no trato gastrintestinal promove a expulsão dos parasitas por meio da intensificação do peristaltismo e da efusão de muco. Estudos realizados com camundongos destacaram estes papéis importantes da IgE e dos mastócitos. Por exemplo, camundongos tratados com anticorpo anti-IL-4 e camundongos nocauteados para IL-4 não produzem IgE e parecem ser mais suscetíveis do que os animais normais a certas infecções helmínticas. Camundongos nocauteados para IL-5, que são incapazes de ativar eosinófilos, também mostram suscetibilidade aumentada a alguns helmintos. Em adição, camundongos geneticamente deficientes em mastócitos apresentam suscetibilidade aumentada à infecção por larvas de carrapato, e a imunidade pode ser conferida a esses camundongos via transferência adotiva de IgE específica e mastócitos (e não por um ou outro componente isolado). As larvas são erradicadas pela reação de fase tardia. Mesmo assim, o papel das respostas do tipo 2 na proteção dos seres humanos contra helmintos é controversa, com infecções de seres humanos por vermes sendo frequentemente sustentadas durante décadas, em face das respostas do tipo 2 crônicas.

Os mastócitos exercem papel protetor importante como parte da resposta imune inata a infecções bacterianas e venenos. Estudos

realizados com camundongos indicaram que os mastócitos podem ser ativados por mecanismos independentes de IgE no decorrer de uma infecção bacteriana aguda, e que os mediadores liberados pelos mastócitos são essenciais para a eliminação da infecção. Camundongos deficientes de mastócitos têm menor capacidade de eliminação e são mais propensos a morrerem de infecção bacteriana aguda do peritônio do que camundongos normais. O papel protetor dos mastócitos nesse contexto é mediado pelo TNF e depende do influxo TNF-estimulado de neutrófilos para o peritônio, especificamente, a reação de fase tardia. Os mecanismos pelos quais os mastócitos são ativados durante as respostas imunes inatas à infecção bacteriana incluem a ligação de padrões moleculares associados ao patógeno a TLRs presentes nos mastócitos, e a ativação do complemento pela via alternativa, levando à liberação de C5a que deflagra diretamente a desgranulação dos mastócitos. Também é possível que a via clássica do complemento seja ativada por anticorpos naturais produzidos por células B-1 e que reconheçam patógenos microbianos comuns.

As proteases derivadas dos mastócitos comprovadamente destroem alguns venenos de cobra e de inseto em camundongos, sendo que a IgE veneno-específica confere proteção contra o envenenamento. Trata-se de uma forma incomum de imunidade inata contra um encontro potencialmente letal com organismos não microbianos e suas toxinas.

Resumo

- A hipersensibilidade imediata é uma reação imune deflagrada pela ativação dos mastócitos, geralmente pela ligação de um antígeno à IgE pré-ligada aos mastócitos.
- As etapas no desenvolvimento de hipersensibilidade imediata são a exposição a um antígeno (alérgeno) que estimula respostas Th2 e produção de IgE; a ligação da IgE a receptores Fcε presentes nos mastócitos; a ligação cruzada da IgE e de receptores Fcε pelo alérgeno; a ativação dos mastócitos; e a liberação de mediadores.
- Indivíduos suscetíveis às reações de hipersensibilidade imediata são chamados atópicos e costumam ter mais IgE no sangue e mais receptores Fc IgE-específicos por mastócito do que os indivíduos não atópicos. A síntese de IgE é induzida pela exposição ao antígeno e pela IL-4 secretada pelas células Tfh.
- As doenças atópicas são caracterizadas por uma inflamação do tipo 2, que envolve as citocinas IL-4, IL-5 e IL-13, além de vários tipos celulares, incluindo células Th2, ILC2s, mastócitos, basófilos e eosinófilos.
- Os mastócitos derivam de precursores da medula óssea que amadurecem nos tecidos. expressam receptores de alta afinidade para IgE (FcεRI) e contêm grânulos citoplasmáticos nos quais são estocados vários mediadores inflamatórios. Subpopulações de mastócitos, incluindo mastócitos de mucosa e do tecido conectivo, podem produzir diferentes mediadores. Os basófilos são um tipo de granulócito circulante que expressa receptores Fcε de alta afinidade e contêm grânulos cujos conteúdos são similares ao conteúdo dos grânulos dos mastócitos.
- Os eosinófilos constituem uma classe especial de granulócitos; são recrutados para as reações inflamatórias pela ação de quimiocinas e de IL-4, sendo ativados pela IL-5. Os eosinófilos são células efetoras que estão envolvidas no *killing* de parasitas. Nas reações alérgicas, os eosinófilos contribuem para a lesão tecidual.
- Mediante a ligação do antígeno à IgE na superfície dos mastócitos ou de basófilos, os receptores Fcε de alta afinidade sofrem ligação cruzada e ativam mensageiros secundários intracelulares que levam à liberação dos grânulos e a uma nova síntese de mediadores. Mastócitos e basófilos ativados produzem três classes

importantes de mediadores: aminas vasoativas, como a histamina; mediadores lipídicos, como as prostaglandinas, leucotrienos e PAF; e citocinas, como TNF, IL-4, IL-13 e IL-5.

- As aminas vasoativas e mediadores lipídicos causam rápidas reações de hipersensibilidade imediata vasculares e musculares lisas, como vasodilatação, extravasamento vascular e edema, broncoconstrição, e hipermotilidade intestinal. As citocinas liberadas por mastócitos e células Th2 medeiam a reação de fase tardia, que consiste em uma reação inflamatória envolvendo infiltração de neutrófilos e eosinófilos.
- A suscetibilidade a doenças alérgicas é herdada, e as variações alélicas de diversos genes foram associadas com a asma alérgica. A suscetibilidade genética interage com fatores ambientais para promover atopia.
- Vários órgãos exibem formas distintas de hipersensibilidade imediata envolvendo diferentes mediadores e tipos de células-alvo. A forma mais grave é uma reação sistêmica chamada choque anafilático. A asma é uma manifestação de reações de hipersensibilidade imediata e de fase tardia no pulmão. A rinite alérgica (febre do feno) é a doença alérgica do trato respiratório superior mais comum. Os alérgenos alimentares podem causar diarreia e vômito. Na pele, a hipersensibilidade imediata se manifesta na forma de reações de pápula e eritema e de fase tardia, podendo levar ao eczema crônico.
- A terapia farmacológica está voltada para a inibição da produção de mediadores dos mastócitos, bem como para o bloqueio ou neutralização dos efeitos dos mediadores liberados sobre os órgãos-alvo. A meta da imunoterapia é prevenir ou diminuir as respostas de célula Th2 a alérgenos específicos, bem como a produção de IgE.
- As reações de hipersensibilidade imediata conferem proteção contra as infecções helmínticas, por meio da promoção de citotoxicidade celular dependente de anticorpo mediada por IgE e eosinófilo, e de peristaltismo. Os mastócitos também podem atuar nas respostas imunes inatas a infecções bacterianas.

Referências Sugeridas

Mastócitos e Eosinófilos

Abraham SN, St John AL. Mast cell-orchestrated immunity to pathogens. *Nat Rev Immunol*. 2010;10:440–452.

Galli SJ, Tsai M. IgE and mast cells in allergic disease. *Nat Med*. 2012;18:693–704.

Gilfillan AM, Tkaczyk C. Integrated signalling pathways for mast-cell activation. *Nat Rev Immunol*. 2006;6:218–230.

Rothenberg ME, Hogan SP. The eosinophil. *Annu Rev Immunol*. 2006;24:147–174.

Respostas Tipo 2 e de IgE

Barrett NA, Austen KF. Innate cells and T helper 2 cell immunity in airway inflammation. *Immunity*. 2009;31:425–437.

Blank U, Rivera J. The ins and outs of IgE-dependent mast-cell exocytosis. *Trends Immunol*. 2004;25:266–273.

Bufford JD, Gern JE. The hygiene hypothesis revisited. *Immunol Allergy Clin North Am*. 2005;25:247–262: v–vi.

Geha RS, Jabara HH, Brodeur SR. The regulation of immunoglobulin E class-switch recombination. *Nat Rev Immunol*. 2003;3:721–732.

Hammad H, Lambrecht BN. Barrier epithelial cells and the control of Type 2 immunity. *Immunity*. 2015;43:29–40.

McKenzie AN, Spits H, Eberl G. Innate lymphoid cells in inflammation and immunity. *Immunity*. 2014;41:366–374.

Mukai K, Tsai M, Starkl P, et al. IgE and mast cells in host defense against parasites and venoms. *Semin Immunopathol*. 2016;38:581–603.

Smits HH, van der Vlugt LE, von Mutius E, Hiemstra PS. Childhood allergies and asthma: new insights on environmental exposures and local immunity at the lung barrier. *Curr Opin Immunol*. 2016;42:41–47.

Wynn TA. Type 2 cytokines: mechanisms and therapeutic strategies. *Nat Rev Immunol*. 2015;15:271–282.

Doenças Alérgicas

Akdis CA, Akdis M. Advances in allergen immunotherapy: aiming for complete tolerance to allergens. *Sci Transl Med*. 2015;7:280–286.

Bonnelykke K, Sparks R, Waage J, et al. Genetics of allergy and allergic sensitization: common variants, rare mutations. *Curr Opin Immunol*. 2015;36:115.

Galli SJ, Tsai M, Piliponsky AM. The development of allergic inflammation. *Nature*. 2008;454:445–454.

Gould HJ, Sutton BJ. IgE in allergy and asthma today. *Nat Rev Immunol*. 2008;8:205–217.

Holgate ST. Innate and adaptive immune responses in asthma. *Nat Med*. 2012;18:673–683.

Holtzman MJ. Asthma as a chronic disease of the innate and adaptive immune systems responding to viruses and allergens. *J Clin Invest*. 2012;122:2741–2748.

Keet CA, Wood RA. Emerging therapies for food allergy. *J Clin Invest*. 2014;124:1880–1886.

Kim HY, DeKruyff RH, Umetsu DT. The many paths to asthma: phenotype shaped by innate and adaptive immunity. *Nat Immunol*. 2010;11:577–584.

Lambrecht BN, Hammad H. Biology of lung dendritic cells at the origin of asthma. *Immunity*. 2009;31:412–424.

Lynch SV, Boushey HA. The microbiome and development of allergic disease. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2016;16:165–171.

Medoff BD, Thomas SY, Luster AD. T cell trafficking in allergic asthma: the ins and outs. *Annu Rev Immunol*. 2008;26:205–232.

Ray A, Raundhal M, Oriss TB, et al. Current concepts of severe asthma. *J Clin Invest*. 2016;126:2394–2403.

Vercelli D. Discovering susceptibility genes for asthma and allergy. *Nat Rev Immunol*. 2008;8:169–182.

Wesemann DR, Nagler CR. The microbiome, timing, and barrier function in the context of allergic disease. *Immunity*. 2016;44:728–738.

CAPÍTULO 21

Imunodeficiências Congênitas e Adquiridas

VISÃO GERAL DAS DOENÇAS POR IMUNODEFICIÊNCIAS

IMUNODEFICIÊNCIAS PRIMÁRIAS (CONGÊNITAS)

- Defeitos na Imunidade Inata
- Imunodeficiências Combinadas Graves
- Deficiências de Anticorpos: Defeitos no Desenvolvimento e Ativação das Células B
- Defeitos na Ativação e Função dos Linfócitos T
- Distúrbios Multissistêmicos com Imunodeficiência
- Abordagens Terapêuticas para Imunodeficiências Congênitas

IMUNODEFICIÊNCIAS SECUNDÁRIAS (ADQUIRIDAS)

VÍRUS DA IMUNODEFICIÊNCIA HUMANA E A SÍNDROME DA IMUNODEFICIÊNCIA ADQUIRIDA

- Características Moleculares e Biológicas do HIV
- Patogênese da Infecção pelo HIV e AIDS
- Características Clínicas da Doença Causada pelo HIV
- Respostas Imunes ao HIV
- Controladores de Elite e não Progressores de Longo Prazo: Uma Possível Função para os Genes do Hospedeiro
- Tratamento e Prevenção da AIDS e Desenvolvimento de Vacinas

RESUMO

A integridade do sistema imune é essencial para a defesa contra organismos infecciosos e seus produtos tóxicos e, portanto, para a sobrevivência de todos os indivíduos. Defeitos em um ou mais componentes do sistema imune podem causar distúrbios graves e muitas vezes fatais, que são coletivamente chamados **doenças por imunodeficiências**. Essas doenças são amplamente classificadas em dois grupos. As **imunodeficiências primárias** ou **congênitas** são defeitos genéticos que resultam no aumento da susceptibilidade à infecção, que frequentemente se manifestam na fase de lactação e início da infância, mas que às vezes são clinicamente detectadas mais tarde na vida. Estima-se que, nos Estados Unidos, cerca de 1 em cada 500 indivíduos nasce com um defeito em algum componente do sistema imune, embora apenas uma pequena proporção seja afetada de forma grave o suficiente para desenvolver complicações com risco de vida. As **imunodeficiências secundárias** ou **adquiridas** não são doenças hereditárias, mas se desenvolvem como uma consequência de desnutrição, câncer disseminado, tratamento com fármacos imunossupressores ou infecção de células do sistema imune, especialmente pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV do inglês, *human immunodeficiency virus*), o agente etiológico da síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS, do inglês, *acquired immunodeficiency syndrome*). Este capítulo descreve os principais tipos de imunodeficiências congênitas e adquiridas, com ênfase na sua patogênese e nos componentes do sistema imune envolvidos nesses distúrbios.

Visão Geral das Doenças por Imunodeficiências

Antes de iniciar a discussão sobre as doenças individualmente, é importante resumir algumas características gerais das imunodeficiências.

A principal consequência da imunodeficiência é o aumento da susceptibilidade à infecção. A natureza da infecção em determinado paciente depende em grande parte do componente do sistema imune que está defeituoso (Tabela 21.1). A imunidade humoral defeituosa normalmente resulta em infecção por bactérias encapsuladas formadoras de pus e alguns vírus, enquanto os defeitos na imunidade mediada por células levam à infecção por vírus e outros microrganismos intracelulares ou à reativação de infecções latentes. As deficiências combinadas, tanto da imunidade humoral como da imunidade mediada por células, tornam os pacientes susceptíveis à infecção por todas as classes de microrganismos. Pacientes imunodeficientes, em especial aqueles com defeitos na imunidade celular, geralmente apresentam infecções por microrganismos comumente encontrados, mas que são eficientemente eliminados nas pessoas saudáveis; tais infecções são chamadas **oportunistas**. Defeitos na imunidade inata podem resultar em infecções por diferentes categorias de microrganismos, dependendo da via ou do tipo celular afetados. Há evidências crescentes de que adultos com infecções recorrentes ou graves normalmente são portadores de mutações em genes que regulam a função imunológica. A disponibilidade de novas tecnologias de sequenciamento de DNA rápidas e eficientes tem melhorado grandemente a capacidade de identificar genes específicos que, quando mutados, conferem suscetibilidade aos patógenos. Uma das lições surpreendentes que estão surgindo a partir da análise das imunodeficiências causadas por mutações de genes únicos é que muitas delas tornam os indivíduos suscetíveis a um grupo muito restrito de infecções. Essa observação sugere que, em seres humanos, mecanismos distintos são frequentemente essenciais para a defesa contra diferentes patógenos, de maneira que os defeitos em qualquer um desses mecanismos torna os indivíduos suscetíveis a apenas algumas infecções.

Tabela 21.1

Características das Imunodeficiências que Afetam os Linfócitos T e B

Característica	Deficiência da Célula B	Deficiência da Célula T
Susceptibilidade à infecção	Bactérias piogênicas (otite, pneumonia, meningite, osteomielite), bactérias entéricas e vírus, alguns parasitas	*Pneumocystis jiroveci*, muitos vírus, micobactérias atípicas, fungos
Níveis séricos de Ig	Reduzido	Normal ou reduzido
Reações de DTH a antígenos comuns	Normal	Reduzida
Morfologia de tecidos linfoides	Folículos e centros germinativos (zonas de células B) ausentes ou reduzidos	Folículos geralmente normais, regiões corticais parafoliculares (zonas de células T) podem estar reduzidas

DTH, Hipersensibilidade do tipo tardio.

Pacientes com imunodeficiências também são suscetíveis a certos tipos de câncer. Muitos desses cânceres parecem ser causados por vírus oncogênicos, como o vírus Epstein-Barr (EBV, do inglês, *Epstein-Barr vírus*) e os papilomavírus humanos (HPVs, do inglês, *human papilloma viruses*). Um aumento da incidência de câncer é mais frequentemente observado nas imunodeficiências de células T porque, como discutido no Capítulo 18, as células T desempenham um papel importante na vigilância contra tumores malignos.

Paradoxalmente, certas imunodeficiências estão associadas a uma maior incidência de autoimunidade. A autoimunidade é geralmente observada em imunodeficiências nas quais há uma perda incompleta de uma população ou função imune decorrente de uma mutação hipomórfica, que normalmente resulta na atenuação de algum mecanismo regulador. Por exemplo, a perda parcial dos componentes enzimáticos ativadores da recombinação, RAG-1 ou RAG-2, podem levar à redução do desenvolvimento de linfócitos (por isso, imunodeficiência), mas também a um defeito na edição do receptor, resultando na falha de um mecanismo de tolerância de células B (e assim, autoimunidade). É também possível que infecções persistentes causem ativação da imunidade inata e lesão tecidual, além de promover ativação de linfócitos autorreativos.

A imunodeficiência pode resultar de defeitos no desenvolvimento ou na ativação dos linfócitos, ou de defeitos nos mecanismos efetores da

imunidade inata e adaptativa. As doenças por imunodeficiências são clínica e patologicamente heterogêneas, em parte porque diferentes doenças envolvem diferentes componentes do sistema imune. As anormalidades no desenvolvimento dos linfócitos podem ser causadas por mutações em genes codificadores de enzimas, adaptadores, proteínas transportadoras e fatores de transcrição. Esses defeitos hereditários e a disrupção de genes-alvo correspondentes em camundongos têm sido instrutivos na elucidação dos mecanismos de desenvolvimento e função dos linfócitos (Capítulo 8).

Neste capítulo, descreveremos primeiramente as imunodeficiências primárias (congênitas), incluindo os defeitos em componentes do sistema imune inato, além dos defeitos nos ramos humoral e mediado por células do sistema imune adaptativo. Concluiremos com uma discussão sobre as imunodeficiências secundárias (adquiridas), com ênfase na AIDS.

Imunodeficiências Primárias (Congênitas)

Em diferentes imunodeficiências primárias, a etiologia da anormalidade pode estar em componentes do sistema imune inato, ou em distintos estágios de desenvolvimento dos linfócitos, ou nas respostas dos linfócitos maduros aos estímulos antigênicos. As imunodeficiências primárias geralmente são identificadas em função de um histórico clínico de infecções de repetição. Alguns diagnósticos são relativamente fáceis de se realizar por meio da determinação dos níveis séricos de imunoglobulinas (Ig), da citometria de fluxo de células imunes ou da avaliação da função dos neutrófilos *in vitro*. Entretanto, investigações mais detalhadas frequentemente são necessárias para a obtenção de um diagnóstico preciso. As imunodeficiências primárias de células T são diagnosticadas por meio da redução do número de células T no sangue periférico, baixa resposta proliferativa de linfócitos sanguíneos a ativadores policlonais de células T, como fitohemaglutinina, e deficiência das reações cutâneas de hipersensibilidade do tipo tardio (DTH, do inglês, *delayed-type hypersensitivity*) a antígenos microbianos ubíquos, como antígenos de *Candida*. Em aproximadamente metade dos estados nos Estados Unidos agora é obrigatório que recém-nascidos sejam testados por meio de um ensaio que detecta os círculos de excisão do receptor das células T (TRECs, *T cell receptor excision circles*) nas células sanguíneas, buscando pelo DNA deletado durante o rearranjo gênico do receptor das células T (TCR, do inglês, *T cell receptor*) nas células T em desenvolvimento. A falha na detecção desses círculos de DNA indica uma ausência no desenvolvimento de células T. Esse ensaio é usado para diagnosticar a imunodeficiência combinada grave, discutida adiante, imediatamente após o nascimento, e permite uma correção oportuna do defeito por meio de transplante de células-tronco hematopoiéticas.

Nas próximas seções, descreveremos as imunodeficiências causadas por mutações hereditárias nos genes que codificam componentes do sistema imune inato ou em genes necessários para o desenvolvimento e ativação de linfócitos. Concluiremos com uma breve discussão sobre as estratégias terapêuticas para essas doenças.

Defeitos na Imunidade Inata

A imunidade inata constitui a primeira linha de defesa contra organismos infecciosos. Dois importantes componentes da imunidade inata são os fagócitos e o complemento, os quais também participam das fases efetoras da imunidade adaptativa. Portanto, distúrbios congênitos dos fagócitos e do sistema complemento resultam em infecções recorrentes. Nesta seção do capítulo, discutiremos alguns exemplos de distúrbios congênitos dos fagócitos, deficiências das células NK e defeitos genéticos nas vias do receptor do tipo *Toll* (TLR, do inglês, *Toll-like receptor*) e na via da interleucina-12 (IL-12)/interferon-γ (IFN-γ) (Tabela 21.2). Os defeitos dos fagócitos geralmente resultam em infecções de pele e do trato respiratório por bactérias ou fungos, que envolvem predominantemente espécies de *Aspergillus* e *Candida*. Abscessos profundos e estomatite oral também são comuns. Os defeitos na sinalização de TLR e de IFN do tipo I podem contribuir para infecções piogênicas recorrentes, bem como para infecções virais graves; defeitos na via de IL-12 e do IFN-γ aumentam a susceptibilidade a patógenos intracelulares, particularmente infecções micobacterianas. As deficiências do complemento estão descritas no Capítulo 13.

Tabela 21.2

Distúrbios Congênitos da Imunidade Inata

Doença	Deficiências Funcionais	Mecanismos do Defeito
Doença granulomatosa crônica	Defeitos na produção de espécies reativas do oxigênio pelos fagócitos; infecções intracelulares bacterianas e fúngicas recorrentes	Mutação nos genes que codificam proteínas do complexo oxidase dos fagócitos; phox-91 (subunidade α do citocromo *b*558) está mutada na forma ligada ao X
Deficiência de adesão leucocitária tipo 1	Defeito na adesão dos leucócitos às células endoteliais e na migração para os tecidos associado à diminuição ou ausência da expressão de β_2 integrinas; infecções bacterianas e fúngicas recorrentes	Mutação no gene que codifica a cadeia β (CD18) das β_2 integrinas
Deficiência de adesão leucocitária tipo 2	Defeito no rolamento e migração dos leucócitos para os tecidos associado à diminuição ou ausência da expressão de ligantes leucocitários para as E- e P-selectinas endoteliais, causando falha na migração de leucócitos para os tecidos; infecções bacterianas e fúngicas recorrentes	Mutações no gene que codifica o transportador-1 GDP-fucose, necessário para o transporte de fucose no Golgi e sua incorporação ao sialil Lewis X
Deficiência de adesão leucocitária tipo 3	Defeito na adesão e migração dos leucócitos para os tecidos associado à ativação deficiente de integrinas estimulada por quimiocinas	Mutação no gene que codifica KINDLIN-3, uma proteína do citoesqueleto associada à ativação da integrina
Síndrome Chédiak-Higashi	Defeito na fusão das vesículas e função lisossômica dos neutrófilos, macrófagos, células dendríticas, células NK, células T citotóxicas e muitos outros tipos celulares; infecções recorrentes por bactérias piogênicas	Mutação no gene *LYST* que causa defeito na exocitose dos grânulos secretores e função lisossômica
Deficiências de células NK	Redução ou ausência de células NK	Mutações no gene que codifica o fator de transcrição GATA-2 e no gene que codifica a DNA helicase MCM-4

Doença	Deficiências Funcionais	Mecanismos do Defeito
Defeitos na sinalização do receptor do tipo *Toll*	Infecções recorrentes causadas por deficiência na sinalização de TLR e CD40 e defeitos na produção de interferon do tipo I	Mutações nos genes *TLR3*, *TRIF*, *TBK1*, *NEMO*, *UNC93B*, *MyD88*, *IκBα* e *IRAK-4* comprometem a ativação de NF-κB *downstream* ao TLR
Suscetibilidade mendeliana a doenças micobacterianas	Doença grave causada por micobactérias ambientais não tuberculosas, BCG e outras bactérias intracelulares	Mutação nos genes *IL-12p40*, *IL12RB*, *IFNGR1*, *IFNGR2*, *STAT1*, *NEMO* e *ISG15*

BCG, Bacilo Calmette-Guérin; *IRAK-4*, quinase 4 associada ao receptor de IL-1; *LYST*, proteína reguladora do tráfego lisossômico; *NEMO*, modulador essencial de NF-κB; *Células NK*, células *natural killer*; *TLR*, receptor do tipo *Toll*.

Atividades Microbicidas Defeituosas dos Fagócitos: Doença Granulomatosa Crônica

A doença granulomatosa crônica (DGC) é causada por mutações em componentes do complexo enzimático da oxidase dos fagócitos (phox). É uma doença rara e estima-se que afete cerca de 1 em cada 200.000 indivíduos nos Estados Unidos. Cerca de 2/3 dos casos exibem um padrão de herança recessiva ligada ao X e o restante são autossômicas recessivas. Na forma da doença ligada ao X, há uma mutação no gene que codifica a subunidade α de 91 kDa do citocromo *b*558, uma proteína integral de membrana, também conhecida como phox-91. Essa mutação resulta na produção defeituosa do ânion superóxido, uma das várias espécies reativas do oxigênio que constituem um mecanismo microbicida central dos fagócitos, especialmente neutrófilos (Capítulo 4). A produção defeituosa de espécies reativas do oxigênio resulta em falha na destruição dos microrganismos fagocitados. Mutações em outros componentes do complexo phox causam formas autossômicas recessivas de DGC.

A DGC é caracterizada por infecções recorrentes causadas por fungos e bactérias intracelulares, como *Staphylococcus*, geralmente no começando no início da infância. A infecção invasiva pelo fungo *Aspergillus* é a principal causa de morte. Muitos dos organismos que são particularmente problemáticos para os pacientes com DGC produzem catalase, que destrói o peróxido de hidrogênio microbicida que pode ser produzido pelas células do hospedeiro a partir do superóxido, o radical reativo de oxigênio residual. Como não são controladas pelos neutrófilos, as infecções

estimulam respostas crônicas mediadas por células, resultando na ativação de macrófagos mediada por células T e na formação de granulomas compostos por macrófagos ativados, que tentam eliminar os microrganismos. Esse achado histológico é a base para o nome do distúrbio. A doença era frequentemente fatal no passado, mesmo com antibioticoterapia agressiva, mas agora o prognóstico tem melhorado significativamente em função do diagnóstico precoce e do melhor controle das infecções.

A citocina IFN-γ aumenta a transcrição do gene que codifica a phox-91 e também estimula outros componentes do complexo enzimático phox. Portanto, o IFN-γ estimula a produção de superóxido por neutrófilos na DGC, especialmente nos casos em que a porção codificadora do gene da phox-91 está intacta, mas a sua transcrição está reduzida. Uma vez que a produção de superóxido dos neutrófilos é restabelecida para cerca de 10% dos níveis normais, a resistência às infecções torna-se amplamente melhorada. Nos Estados Unidos, a terapia com IFN-γ é frequentemente utilizada hoje em dia para o tratamento da DGC ligada ao X.

Deficiências de Adesão Leucocitária

As deficiências de adesão leucocitária representam um grupo de distúrbios autossômicos recessivos causados por defeitos nas moléculas de adesão dos leucócitos e do endotélio. Essas doenças são caracterizadas por uma falha no recrutamento dos leucócitos, particularmente neutrófilos, para os locais de infecção, resultando em periodontite grave e outras infecções recorrentes no início da vida, bem como em incapacidade de formar pus. Tipos distintos de deficiências de adesão leucocitária são causados por mutações em diferentes genes.

- ***Deficiência de adesão leucocitária tipo 1 (LAD-1, do inglês,* leukocyte adhesion deficiency type 1*).*** É uma doença autossômica recessiva rara, caracterizada por infecções bacterianas e fúngicas recorrentes e comprometimento na cicatrização de feridas. Atraso na separação do cordão umbilical e leucocitose são comuns. Nesses pacientes, a maioria das funções dependentes da adesão dos leucócitos está defeituosa, incluindo a aderência ao endotélio, a agregação e a quimiotaxia de neutrófilos, fagocitose e citotoxicidade mediada por neutrófilos, células NK e linfócitos T. A base molecular do defeito é a expressão reduzida ou ausente das integrinas β2 (heterodímeros de CD18 e da família CD11 de

glicoproteínas), devido a várias mutações no gene *CD18*. As β2-integrinas incluem o antígeno 1 associado à função leucocitária (LFA-1, do inglês *leukocyte function-associated antigen 1*, ou CD11aCD18), Mac-1 (CD11bCD18) e p150,95 (CD11cCD18). Essas proteínas participam da adesão dos leucócitos a outras células, particularmente as células endoteliais, e da ligação dos linfócitos T às células apresentadoras de antígenos (APCs, do inglês, *antigen-presenting cells*) (Capítulo 3).

- ***Deficiência de adesão leucocitária tipo 2 (LAD-2).*** É outro distúrbio raro no qual, assim como na LAD-1, as crianças apresentam infecções recorrentes e leucocitose, mas também exibem grave retardo mental e de crescimento. A LAD-2 não está associada a defeitos das integrinas, mas resulta de uma ausência de sialil Lewis X, o ligante de carboidratos tetrassacarídicos presente em neutrófilos e outros leucócitos, necessário para a ligação a E-selectina e a P-selectina no endotélio ativado por citocinas (Capítulo 3). Esse defeito é causado pela mutação de um transportador de GDP-fucose responsável pelo transporte de fucose no complexo de Golgi, resultando em uma incapacidade de sintetizar sialil Lewis X. A ausência de sialil Lewis X resulta em uma ligação defeituosa dos leucócitos ao endotélio, na ausência de rolamento dos leucócitos e, consequentemente, no recrutamento defeituoso de leucócitos para os sítios de infecção. Essa anormalidade da fucosilação observada na LAD-2 também contribui para um fenótipo do grupo sanguíneo Mumbai, representado pela ausência de glicanos H fucosilados que formam o núcleo de antígenos dos grupos sanguíneos A, B e O.
- ***Deficiência de adesão leucocitária tipo 3 (LAD-3).*** Pacientes com LAD-3 se apresentam clinicamente com infecções repetidas e atraso na separação umbilical, como na LAD-1. Porém, esses pacientes também têm um distúrbio de coagulação potencialmente fatal que requer transfusões sanguíneas em função do defeito de agregação plaquetária, mesmo com contagens normais de plaquetas. Essa deficiência é causada por um defeito na via de sinalização de dentro para fora, que medeia a ativação da integrina induzida por quimiocina, necessária para a ligação firme dos leucócitos ao endotélio (Capítulo 3) e para a agregação plaquetária. Em um subgrupo de pacientes, é causada por mutações no gene codificador de KINDLIN-3, uma proteína que se liga à cauda

citoplasmática de algumas integrinas e está envolvida na sinalização.

Defeitos nas Células Nk e Fagócitos

Raros pacientes apresentam ausência de células NK devido a mutações autossômicas dominantes no gene que codifica o fator de transcrição GATA-2. A perda da atividade de GATA-2 resulta em diminuição das populações precursoras na medula óssea e uma consequente perda de células NK, bem como diminuição de monócitos, células dendríticas e células B. Mutações autossômicas recessivas em MCM4 (componente 4 do complexo de manutenção do minicromossoma, do inglês, *minichromosome maintenance complex component 4*), uma DNA helicase, também resulta na perda de células NK acompanhada por insuficiência da suprarrenal e retardo do crescimento. Mutações autossômicas recessivas em CD16 (FcγRIIIA), um receptor Fc que medeia a citotoxicidade celular dependente de anticorpo (CCDA), resulta em uma perda da função das células NK que vai além da perda da atividade de CCDA. Ainda não está claro como o CD16 é necessário para a função da célula NK de maneira geral. Os pacientes apresentam infecções graves causadas por vírus, principalmente das famílias Herpesvírus e Papilomavírus.

A ***síndrome de Chédiak-Higashi*** é uma doença autossômica recessiva rara, caracterizada por infecções recorrentes por bactérias piogênicas, albinismo oculocutâneo parcial e infiltração de diversos órgãos por linfócitos não neoplásicos. Os neutrófilos, monócitos e linfócitos desses pacientes contêm lisossomos gigantes. A doença é causada por mutações no gene que codifica a proteína LYST, que regula o tráfego intracelular dos lisossomos. As mutações resultam em fusão defeituosa dos fagolisossomos em neutrófilos e macrófagos (causando resistência reduzida às infecções), formação defeituosa de melanossomos nos melanócitos (causando albinismo) e anormalidades lisossômicas em células do sistema nervoso (causando defeitos em nervos) e em plaquetas (causando distúrbios de coagulação). Lisossomos gigantes se formam nos neutrófilos durante sua maturação a partir de precursores mieloides. Alguns desses precursores dos neutrófilos morrem prematuramente, resultando em leucopenia moderada. Os neutrófilos que sobrevivem podem conter níveis reduzidos de enzimas lisossômicas, que normalmente atuam no *killing* microbiano. A quimiotaxia e a fagocitose nessas células também são defeituosas, contribuindo ainda mais para a sua atividade microbicida deficiente. A função das células NK nos pacientes é prejudicada, provavelmente em

decorrência de uma anormalidade nos grânulos citoplasmáticos que armazenam as proteínas que medeiam a citotoxicidade. A gravidade do defeito na função de linfócitos T citotóxicos (CTLs, do inglês, *cytotoxic T lymphocytes*) é variável entre os pacientes. Uma linhagem de camundongos mutante chamada de "camundongo bege" é um modelo animal para a síndrome de Chédiak-Higashi. Essa linhagem é caracterizada por defeitos na função das células NK e presença de lisossomos gigantes em leucócitos. A mutação "bege" foi mapeada no *locus Lyst* murino.

Defeitos Hereditários nas Vias de Tlr, Sinalização do Fator Nuclear-κB e Interferons do Tipo I

Os defeitos hereditários nas respostas induzidas por TLRs são raros e somente foram reconhecidos recentemente. Os defeitos na sinalização de TLRs tendem a causar fenótipos clínicos bastante circunscritos. Mutações em heterozigose dominante que interferem com TLR3 resultam em encefalite herpética. Quase todos os vírus, incluindo vírus de DNA como o herpesvírus, geram transcritos de RNA de fita dupla que são reconhecidos pelo TLR3 (Capítulo 4). A principal via de sinalização *downstream* da maioria dos TLRs, bem como do receptor da IL-1 (IL-1R), envolve o adaptador MyD88 e as quinases IRAK-4 e IRAK-1 (Capítulo 4), e essa via resulta na indução de citocinas pró-inflamatórias dependente do fator nuclear-κB (NF-κB). Indivíduos com mutações em MyD88 e IRAK-4 sofrem de infecções bacterianas invasivas graves no início da vida, especialmente pneumonia pneumocócica. Em fases mais tardias da vida, as infecções tendem a ser menos graves. A sinalização pelo TLR3 utiliza a proteína adaptadora TRIF, em vez de MyD88, além de TBK1, uma serina-treonina quinase que atua *downstream* a TRIF para ativar IRF3 bem como NF-κB pela via não canônica. Mutações autossômicas recessivas em TRIF e mutações autossômicas dominantes em TRAF3, uma E3-ligase, resultam em suscetibilidade à encefalite herpética. Um fenótipo semelhante é observado em mutações autossômicas dominantes no gene que codifica TBK1. Os TLR3, 7, 8 e 9 reconhecem ácidos nucleicos, estão localizados em endossomos e necessitam de uma proteína chamada UNC93B (do inglês, *uncoordinated 93B*) para exercer a sua função. A UNC93B é uma proteína de membrana do retículo endoplasmático que interage com os TLRs endossomais quando estes são sintetizados no retículo endoplasmático, ajudando a distribuir os TLRs nos endossomos. A proteína UNC93B também é crítica para a sinalização de TLR específicos ao ácido nucleico. Mutações homozigóticas em UNC93B resultam na redução da geração de

interferon do tipo I e no aumento da susceptibilidade à encefalite herpética.

A sinalização *downstream* dos TLRs endossomais resulta na síntese e secreção de interferons do tipo I, que se ligam aos seus receptores e ativam o fator de transcrição STAT1. Em alguns pacientes, mutações com perda de função em *STAT1* estão ligadas a infecções virais graves, particularmente a encefalite herpética. O achado de que mutações no próprio TLR3 ou em genes que impactam a localização e a sinalização do TLR3 resultam todas em suscetibilidade à encefalite herpética, indicam que a produção de interferon do tipo I *downstream* à ativação de TLR3 é crucial na defesa contra a infecção no sistema nervoso central (SNC).

Algumas imunodeficiências são causadas por defeitos que afetam especificamente a ativação do NF-κB. As mutações pontuais na quinase γ inibidora de κB (IKKγ), também conhecida como modulador essencial do NF-κB (NEMO, do inglês, *NF-κB essential modulator*), um componente do complexo da quinase IκB necessário para a ativação do NF-κB, contribuem para a condição recessiva ligada ao X conhecida como displasia ectodérmica anidrótica com imunodeficiência (EDA-ID, do inglês, *anhidrotic ectodermal dysplasia with immunodeficiency*). Nessa doença, a diferenciação de estruturas derivadas do ectoderma é anormal e a função imunológica é prejudicada em inúmeras vias. As respostas aos sinais de TLR, bem como sinais de CD40 estão comprometidos. Esses pacientes sofrem de infecções por bactérias piogênicas encapsuladas, bem como por patógenos bacterianos intracelulares incluindo micobactérias, vírus e fungos, como *Pneumocystis jiroveci* (ver também a discussão adiante na seção sobre síndromes de hiper-IgM).

Defeitos na Via De Il-12/Ifn-γ

A IL-12 é secretada por células dendríticas e macrófagos, e a sinalização do receptor de IL-12 (IL-12R) estimula a síntese de IFN-γ pelas células T auxiliares, CTLs e células NK (Capítulos 4 e 10). Mutações nos genes que codificam a IL-12p40, a cadeia IL-12Rβ1 e ambas as cadeias do receptor de IFN-γ, bem como algumas mutações em STAT1 e IKKγ/NEMO, resultam em suscetibilidade às espécies de *Mycobacterium* ambientais (comumente chamadas micobactérias atípicas), como *Mycobacterium avium*, *Mycobacterium kansasii* e *Mycobacterium fortuitum*. O termo "suscetibilidade mendeliana à doença micobacteriana" (MSMD, do inglês, *mendelian susceptibility to mycobacterial disease*) é usado para esstes distúrbios nos quais os indivíduos são predispostos a doenças graves causadas por

micobactérias fracamente virulentas que não causam doença em indivíduos saudáveis, assim como outros patógenos intracelulares incluindo espécies bacterianas, fúngicas e virais.

Defeitos no Desenvolvimento Esplênico

O desenvolvimento esplênico pode falhar devido a uma condição autossômica dominante (e às vezes esporádica) chamada asplenia congênita isolada. Nesses pacientes, mutações *missense* (definida pela codificação de um aminoácido diferente do normal) em heterozigose têm sido encontradas no gene *NBX2.5*, que codifica um fator de transcrição. A asplenia também pode ser causada por mutações em genes que controlam a lateralidade esquerda-direita, que também afeta outros órgãos. Pacientes congenitamente asplênicos apresentam infecções graves por bactérias encapsuladas, especialmente *Streptococcus pneumoniae*.

Imunodeficiências Combinadas Graves

As imunodeficiências que afetam tanto a imunidade humoral como a imunidade mediada por células são chamadas imunodeficiências combinadas graves (SCID, do inglês,* severe combined immunodeficiencies*) (Tabela 21.3). A SCID é uma consequência do desenvolvimento comprometido de linfócitos T associado ou não a defeitos na maturação de células B. Quando não há bloqueio no desenvolvimento das células B, o defeito na imunidade humoral deve-se à ausência da ajuda de células T.

Tabela 21.3

Imunodeficiências Combinadas Graves

Doença	Deficiências Funcionais	Mecanismos do Defeito
Desenvolvimento Tímico Defeituoso		
Defeito no ponto de controle do pré-TCR	Células T reduzidas; células B normais ou reduzidas; Ig sérica reduzida	Mutação nos genes *CD45, CD3D, CD3E, ORAI1* (componente do canal CRAC), *STIM1*
Síndrome DiGeorge	Células T reduzidas; células B normais; Ig sérica normal ou reduzida	Deleção em 22q11; mutações no fator de transcrição T-box 1 (*TBX1*)
Deficiência de FoxN1	Aplasia tímica com desenvolvimento defeituoso de células T	Mutação recessiva em *FoxN1*
Deficiência da cadeia α do TCR	Ausência de células T $\alpha\beta$; células T $\gamma\delta$ normais; infecções recorrentes e autoimunidade	Deleção autossômica recessiva na região C da cadeia α do TCR
Deficiência no egresso de células T tímicas e deficiência da sinalização de células T	Redução acentuada de todas as células T periféricas	Mutações nos genes *RHOH* e *MST1*
Perda seletiva de células T $CD4^+$ e deficiência da sinalização de células T	Células T $CD4^+$ reduzidas	Mutações nos genes *LCK* e *UNC119*
Síndrome do linfócito nu	Expressão defeituosa do MHC de classe II e deficiência em células T $CD4^+$; imunidade mediada por células e respostas imunes humorais T-dependentes defeituosas	Defeitos nos fatores de transcrição que regulam a expressão gênica do MHC de classe II, incluindo os genes *CIITA, RFXANK, RFX5* e *RFXAP*
Deficiência do MHC de classe I	Níveis do MHC de classe I diminuídos; células T $CD8^+$ reduzidas	Mutações nos genes *TAP1, TAP2* e *TAPASINA*
Disgenesia reticular	Células T, células B e células mieloides reduzidas	Mutação no gene *AK2*
Defeitos em Vias de Salvamento de Nucleotídeos		

Doença	Deficiências Funcionais	Mecanismos do Defeito
Deficiência de ADA	Diminuição progressiva de células T, células B e células NK; Ig sérica reduzida	Mutação no gene *ADA*, levando ao acúmulo de metabólitos tóxicos em linfócitos
Deficiência de PNP	Diminuição progressiva de células T, células B e células NK; Ig sérica reduzida	Mutação no gene *PNP*, levando ao acúmulo de metabólitos tóxicos em linfócitos
Defeitos na Sinalização de Citocinas		
SCID ligado ao X	Diminuição acentuada de células T; células B normais ou aumentadas; Ig sérica reduzida	Mutações na cadeia γ comum do receptor de citocinas; desenvolvimento defeituoso de células T devido à ausência de sinais derivados de IL-7
Formas autossômicas recessivas	Diminuição acentuada de células T; células B normais ou aumentadas; Ig sérica reduzida	Mutações nos genes *IL2RA, IL7RA, JAK3*
Defeitos na Recombinação V(D)J		
Defeitos na recombinação mediada por RAG1 ou RAG2*	Células T e B reduzidas; Ig sérica reduzida; ausência ou deficiência de células T e B	Clivagem defeituosa durante recombinação V(D)J; mutações nos genes *RAG1* ou *RAG2*
Reparo na quebra da dupla-fita e ponto de controle	Células T e B reduzidas; Ig sérica reduzida; ausência ou deficiência de células T e B	Falha em resolver grampos durante a recombinação V(D)J; mutações nos genes *ARTEMIS, DNA-PKcs, CERNUNNOS, LIG4, NBS1, MRE11, ATM*

ADA, adenosina desaminase; *AK2*, adenilato quinase 2; *ATM*, ataxia-telangiectasia mutada; *CRAC*, canal de liberação de cálcio ativado; *DNA-PKcs*, subunidade catalítica da proteína quinase dependente de DNA; *Ig*, imunoglobulina; *LIG4*, DNA ligase 4; *MREI11*, homólogo 11 da recombinação meiótica; *NBS1*, síndome de ponto de quebra 1 de Nijmegen; *células NK*, células *natural killer; PNP,* purina nucleosídeo fosforilase; *SCID*, imunodeficiência combinada grave; *TCR*, receptor da célula T.

* Mutações hipomórficas nos genes *RAG* e em *ARTEMIS* podem contribuir para a Síndrome de Omenn.

Os pacientes com SCID sofrem de graves infecções que podem ser fatais, incluindo pneumonia, meningite e bacteremia. Entre os organismos mais perigosos está um fungo denominado *P. jiroveci*, que pode causar pneumonia grave. Muitos vírus causam doenças sérias em pacientes com SCID. A catapora (varicela) normalmente permanece limitada à pele e membranas mucosas em crianças imunologicamente normais e

tipicamente se resolve em dias, ao passo que nos pacientes com SCID a infecção pode progredir e envolver os pulmões, fígado e cérebro. O citomegalovírus (CMV), que está presente como uma infecção latente na maioria das pessoas, pode ser reativado e causar pneumonia fatal em pacientes com SCID. Crianças com SCID frequentemente desenvolvem infecções gastrintestinais normalmente causadas por rotavírus, por CMV ou pelos protozoários *Crytosporidium* e *Giardia lamblia*, provocando diarreia persistente e má absorção.

Crianças com SCID também podem desenvolver infecções causadas por vacinas vivas atenuadas, as quais não são prejudiciais em crianças que apresentam imunidade normal. As vacinas para varicela, sarampo, caxumba, rubéola e rotavírus são vacinas de vírus vivos e as crianças com SCID podem contrair as infecções a partir dessas vacinas.

Alguns pacientes com SCID desenvolvem uma erupção cutânea crônica que é frequentemente confundida com infecção. A erupção é causada por uma reação enxerto-*versus*-hospedeiro na qual as células T maternas entram no feto, mas não são rejeitadas (porque o feto não apresenta um sistema imune competente) e reagem contra os tecidos do bebê.

Mutações em genes envolvidos em diferentes etapas do desenvolvimento de linfócitos podem causar SCID (Fig. 21.1). O processo de maturação dos linfócitos T e B a partir de células-tronco hematopoéticas em linfócitos maduros funcionalmente competentes envolve a proliferação dos progenitores de linfócitos, rearranjo dos genes do receptor antigênico, seguido pela seleção de células com especificidades úteis (Capítulo 8). Foram descritos defeitos em muitas dessas etapas nas várias formas de SCID, incluindo no desenvolvimento tímico, no metabolismo de purinas e na sinalização de citocinas. Cerca de 50% das SCID são autossômicas recessivas; o restante é ligada ao X.

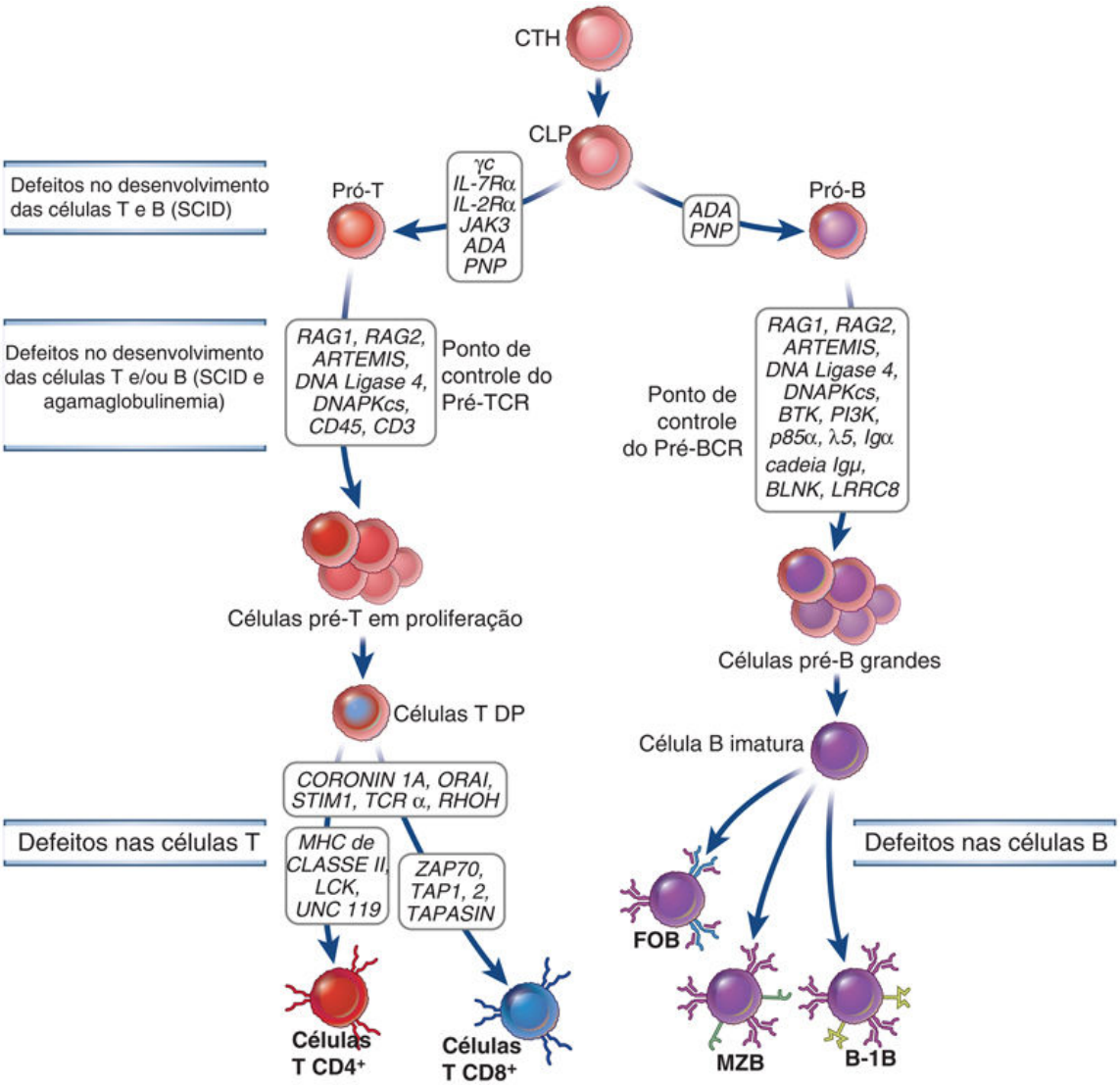


FIGURA 21.1 Imunodeficiência causada por defeitos na maturação de células T e B.
As imunodeficiências primárias causadas por defeitos genéticos na maturação de linfócitos são mostradas. Esses defeitos podem afetar somente a maturação das células T, somente a maturação das células B, ou ambas. *CLP*, progenitor linfoide comum; *DP*, duplo-positivas; *FOB*, células B foliculares; *CTH*, células-tronco hematopoiéticas; *MZB*, células B da zona marginal.

Síndrome de DiGeorge e Outras Formas de SCID devido ao Defeito no Desenvolvimento Epitelial Tímico

A falha completa ou parcial do desenvolvimento do primórdio tímico pode levar à maturação defeituosa das células T. O defeito mais comum no desenvolvimento do timo causador de SCID é observado em crianças com a ***síndrome de DiGeorge***. Essa deficiência seletiva de células T é devida a uma má-formação congênita que resulta no desenvolvimento defeituoso do timo e das glândulas paratireoides, bem como de outras estruturas que se desenvolvem a partir da 3ª e 4ª bolsas faríngeas durante a vida fetal. O defeito congênito manifesta-se por hipoplasia ou agenesia do timo causando imunodeficiência decorrente da maturação defeituosa das células T, ausência das glândulas paratireoides resultando em homeostase anormal do cálcio e espasmos musculares (tetania), desenvolvimento anormal dos grandes vasos e deformidades faciais. Diferentes pacientes podem apresentar graus variados dessas anormalidades. A doença é causada mais frequentemente por uma deleção na região cromossômica 22q11. Uma linhagem murina que apresenta um defeito semelhante no desenvolvimento do timo é portadora de uma mutação em um gene que codifica um fator de transcrição denominado T-box 1 (TBX1), que se situa dentro da mesma região cromossômica. Isso sugere que a imunodeficiência associada à síndrome de DiGeorge pode ser explicada, pelo menos em parte, pela deleção do gene *TBX1*.

Nessa síndrome, os linfócitos T do sangue periférico estão ausentes ou em número bastante reduzido, e as células não respondem aos ativadores policlonais de células T ou em reações mistas de leucócitos. Os níveis de anticorpos geralmente estão normais, mas podem estar reduzidos nos pacientes gravemente afetados. Como em outras deficiências graves de células T, os pacientes são susceptíveis a infecções micobacterianas, virais e fúngicas. A imunodeficiência associada à síndrome de DiGeorge pode ser corrigida pelo transplante fetal tímico ou pelo transplante de medula óssea. No entanto, esse tratamento geralmente não é necessário porque a função das células T tende a melhorar com a idade e uma grande fração dos pacientes, tornando-se normal por volta dos 5 anos. Essa melhora provavelmente ocorre devido à presença de algum tecido tímico residual ou porque alguns sítios extratímicos ainda não definidos assumem a função de maturação das células T. É também possível que, à medida que esses pacientes envelhecem, o tecido do timo desenvolva-se em sítios ectópicos (i.e., fora da localização normal).

Mutações autossômicas recessivas no gene *FOXN1* foram descritas em um pequeno número de pacientes que apresentam SCID, alopecia (perda de cabelo) e distrofia de unhas. O FOXN1 é um fator de transcrição da família *Forkhead* necessário para o desenvolvimento do primórdio tímico e

outras estruturas ectodérmicas. O "camundongo nu" (*nude mouse*), uma linhagem amplamente usada em pesquisa imunológica, tem ausência do timo e de pelos em decorrência de uma mutação no mesmo gene.

Além dos defeitos no desenvolvimento do primórdio tímico, os genes que regulam a saída das células T do timo também podem causar SCID. Um defeito raro no timo foi descrito envolvendo uma mutação em *CORONIN1A*, que codifica uma proteína que regula a actina do citoesqueleto. A ausência de CORONIN1A funcional resulta em defeitos no egresso das células T maduras do timo. Mutações em homozigose no gene *MST1*, que codifica uma serina/treonina quinase proteica, resulta em falha da emigração das células T do timo e ausência de células T *naive* na circulação. Os pacientes apresentam infecções bacterianas e virais recorrentes, e alguns desenvolvem linfomas associados ao EBV. Alguns pacientes apresentam epidermodisplasia verruciforme, um distúrbio caracterizado por verrugas infectadas pelo HPV e carcinomas de pele. O MST1 desempenha diversos papéis na proliferação, sobrevivência e migração celular. Embora o principal defeito seja na emigração de células T do timo, também ocorrem defeitos imunes humorais em alguns pacientes que apresentam diminuição no número de células B e hipogamaglobulinemia.

Deficiência de ADA e Outras Formas de SCID Causadas por Defeitos no Metabolismo Nucleotídico

***A causa mais comum de SCID autossômica recessiva é a deficiência de uma enzima chamada adenosina desaminase (ADA), devido a mutações no gene* ADA.** A ADA atua na via de salvamento da síntese de purinas e catalisa a desaminação irreversível da adenosina e da 2′-desoxiadenosina em inosina e 2′-desoxinosina, respectivamente. A deficiência da enzima leva ao acúmulo de desoxiadenosina e seus precursores, S-adenosil-homocisteína e trifosfato de desoxiadenosina (dATP). Esses subprodutos apresentam vários efeitos tóxicos, incluindo a inibição da síntese de DNA. Embora a ADA esteja presente na maioria das células, os linfócitos em desenvolvimento são menos eficientes do que a maioria dos outros tipos celulares na degradação de dATP em 2′-desoxiadenosina, e, portanto, a maturação dos linfócitos é particularmente sensível à deficiência de ADA. Outras características da doença podem incluir surdez, anormalidades costocondrais, dano hepático e problemas comportamentais. A deficiência de ADA leva à redução do número de células B e T; os números de linfócitos geralmente estão normais ao nascimento, mas diminuem

drasticamente durante o primeiro ano de vida. Alguns pacientes podem apresentar um número quase normal de células T, mas essas células não proliferam em resposta à estimulação antigênica.

Uma forma autossômica recessiva mais rara de SCID deve-se à deficiência de purina nucleosídeo fosforilase (PNP, do inglês, *purine nucleoside phosphorylase*), uma enzima que também está envolvida no catabolismo das purinas. A PNP catalisa a conversão de inosina em hipoxantina e de guanosina em guanina, e a deficiência de PNP leva ao acúmulo de desoxiguanosina e desoxiguanosina trifosfato, com efeitos tóxicos sobre os linfócitos imaturos, principalmente as células T. A anemia hemolítica autoimune e a deterioração neurológica progressiva também são características desta doença.

Uma forma particularmente grave de SCID é observada em uma doença chamada **disgenesia reticular**. Essa doença rara é caracterizada pela ausência de linfócitos T e B e da maioria das células mieloides, incluindo granulócitos, e deve-se a um defeito no desenvolvimento de progenitores linfoides e mieloides. A doença autossômica recessiva é causada por uma mutação no gene *adenilato quinase 2* (*AK2*). A proteína AK2 regula o nível de adenosina difosfato, e na ausência de AK2 há aumento da apoptose de precursores mieloides e linfoides.

SCID Ligada ao X

A SCID ligada ao X é causada por mutações no gene que codifica a cadeia γ comum (γc) compartilhada pelos receptores das citocinas IL-2, IL-4, IL-7, IL-9, e IL-15 (Capítulos 4, 9 e 10). A SCID ligada ao X caracteriza-se pela maturação deficiente das células T e células NK e grande redução dos números de células T e células NK maduras, enquanto o número de células B frequentemente está normal ou aumentado. A imunodeficiência humoral nessa doença deve-se à falta de ajuda das células T para a produção de anticorpos. A doença é um resultado da incapacidade da citocina linfopoiética IL-7, cujo receptor utiliza a cadeia γc para sinalização, de estimular o crescimento de timócitos imaturos. O receptor da IL-15, que é necessário para o desenvolvimento das células NK, também utiliza a cadeia de sinalização γc, e a falha da função de IL-15 explica a deficiência de células NK.

Mulheres heterozigotas geralmente são portadoras fenotipicamente normais, enquanto os homens que herdam o cromossomo X anormal manifestam a doença. Como as células em desenvolvimento nas mulheres inativam aleatoriamente um dos dois cromossomos X, o alelo normal que

codifica uma proteína γc funcional não será expresso na metade dos precursores de linfócitos em uma mulher portadora. Essas células não conseguirão amadurecer e, consequentemente, todos os linfócitos maduros em uma mulher portadora terão o mesmo cromossomo X desativado (portador do alelo mutante). Em contraste, metade de todas as células não linfoides terá um cromossomo X inativado, e metade o outro. Uma comparação da inativação do cromossomo X nas células linfoides *versus* células não linfoides pode ser usada para identificar portadoras do alelo mutante. O uso não aleatório do cromossomo X em linfócitos maduros também é uma característica de mulheres portadoras de mutações de outros genes ligados ao X que afetam o desenvolvimento dos linfócitos, como discutido mais adiante.

Mutações Autossômicas Recessivas em Componentes de Sinalização das Citocinas

Alguns pacientes com doença clinicamente idêntica à SCID ligada ao X exibem uma herança autossômica recessiva. Esses pacientes apresentam mutações na cadeia α do receptor de IL-7 ou na quinase JAK3, que se associa à cadeia γc e é necessária para a sinalização por esse receptor (Capítulo 7). Os pacientes com mutações no gene que codifica a cadeia IL-7Rα têm um defeito no desenvolvimento das células T, mas exibem desenvolvimento normal das células NK, porque a sinalização via IL-15 não é afetada, além de apresentar números normais de células B.

Scid Causada por Defeitos na Recombinação V(D)J e Sinalização de Ponto de Controle do Pré-Tcr

A ausência de recombinação V(D)J leva a uma falha na expressão do pré-TCR (do inglês, pre-T cell receptor) e do pré-BCR (do inglês, B cell receptor), e um bloqueio no desenvolvimento das células T e B. Mutações nos genes *RAG1* ou *RAG2*, que codificam proteínas que medeiam a etapa de clivagem durante a recombinação V(D)J, ou no gene *ARTEMIS*, que codifica uma endonuclease que elimina as alças em forma de grampo de codificadores terminais durante a recombinação V(D)J, resultam todas em falhas na recombinação V(D)J. Essas doenças são raras, mas representam uma grande porcentagem das formas autossômicas recessivas de SCID. As funções desses genes são discutidas no Capítulo 8. Em crianças com essas mutações, os linfócitos B e T estão ausentes e a imunidade gravemente comprometida. As mutações em genes que codificam as proteínas

envolvidas no reparo das quebras de dupla-fita ou das junções terminais não homólogas do DNA também causam SCID em função de defeitos na recombinação V(D)J. Essas mutações incluem genes que codificam a subunidade catalítica da proteína quinase dependente de DNA (DNA-PK, do inglês, *DNA-dependent protein kinase*) e a DNA LIGASE 4. Defeitos genéticos nesse processo de junção terminal também resultam no aumento da sensibilidade celular à radiação e podem resultar em outras manifestações, como microcefalia, dismorfias faciais e defeito no desenvolvimento dos dentes.

Embora muitas formas autossômicas recessivas de SCID estejam associadas a mutações nos genes *ADA, RAG1, RAG2* e *ARTEMIS*, outras formas da síndrome são causadas por mutações nos genes codificadores da fosfatase CD45 (que é um regulador positivo de quinases da família Src, como Fyn, Lck, e Lyn) e mutações nas cadeias δ ou ε do CD3, ou na cadeia ζ associada ao CD3. Essas mutações contribuem para um defeito na sinalização do pré-TCR e resultam em um bloqueio no desenvolvimento de células T $\alpha\beta$.

Um defeito específico no desenvolvimento de células T $\alpha\beta$ e uma apresentação clínica que envolve infecções virais recorrentes é causada por mutações em homozigose no gene que codifica a região constante da cadeia α do receptor de células T (TCRα). Os indivíduos afetados apresentam maior susceptibilidade a infecções, incluindo aquelas causadas pelo vírus varicela-zóster e EBV, bem como autoimunidade e características de atopia. Os sinais clínicos incluem eosinofilia, vitiligo, eczema, alopecia areata, anemia hemolítica autoimune e a presença de outros autoanticorpos. A desregulação imunológica pode refletir a ausência de células T reguladoras; as únicas células T presentes em crianças com esta doença são as células T $\gamma\delta$.

Mutações autossômicas recessivas em LCK, uma tirosina quinase essencial envolvida na sinalização do pré-TCR e do TCR, também contribuem para a SCID com deficiência de células T, ausência de células T reguladoras, infecções recorrentes, e sinais de desregulação imune.

Mutações hipomórficas (que reduzem apenas parcialmente a função) nos genes *RAG* ou *ARTEMIS* são a causa de uma doença chamada **síndrome de Omenn**, caracterizada pela geração reduzida de células T e B, imunodeficiência e manifestações autoimunes e alérgicas. A síndrome de Omenn é fenotipicamente muito diferente das SCID causadas por mutações mais graves nesses mesmos genes porque a imunodeficiência nesta síndrome coexiste com a imunoativação exacerbada e com autoimunidade. Isso pode ser o resultado de uma proporção

anormalmente baixa de células T reguladoras em relação às células T efetoras ou, nos casos de redução da recombinação V(D)J, de defeito na edição de receptores em células B imaturas.

Síndrome do Linfócito Nu e Outros Defeitos na Seleção Positiva das Células T

A geração de células T $CD4^+$ e $CD8^+$ simples-positivas a partir de timócitos duplo-positivos depende de eventos de seleção positiva e comprometimento de linhagem. Mutações hereditárias específicas em genes que regulam o processo de seleção positiva bloqueiam o desenvolvimento de células T $CD4^+$ ou de células T $CD8^+$.

A deficiência do complexo principal de histocompatibilidade (MHC, do inglês, *major hiscocompatibility complex*) de classe II, chamada **síndrome do linfócito nu**, é um grupo heterogêneo raro de doenças autossômicas recessivas, nas quais os pacientes expressam pouco ou nenhum HLA-DP, HLA-DQ ou HLA-DR nos linfócitos B, macrófagos e células dendríticas, e falham em expressar moléculas do MHC de classe II em resposta ao IFN-γ. Os pacientes expressam níveis normais ou apenas levemente reduzidos de moléculas do MHC de classe I e de β2-microglobulina. A maioria dos casos da síndrome do linfócito nu é causada por mutações em genes codificadores de proteínas que regulam a transcrição de genes do MHC de classe II. Por exemplo, mutações que afetam a expressão constitutiva do fator de transcrição RFX5 ou do ativador transcricional CIITA induzido por IFN-γ, causam redução na expressão do MHC de classe II e falha das APCs em ativar os linfócitos T $CD4^+$. A falha na apresentação antigênica pode resultar na seleção positiva defeituosa das células T no timo, levando a uma redução no número de células T $CD4^+$ maduras ou ativação deficiente das células na periferia. Indivíduos afetados apresentam deficiência nas respostas de DTH e nas respostas de anticorpos a antígenos proteicos T-dependentes. A doença se manifesta durante o primeiro ano de vida e normalmente é fatal, a menos que seja tratada com transplante de células-tronco hematopoiéticas.

Deficiências autossômicas recessivas do MHC de classe I também foram descritas e são caracterizadas pela diminuição do número e função das células T $CD8^+$. Em alguns casos, a falha em expressar moléculas do MHC de classe I deve-se a mutações nos genes *TAP-1* ou *TAP-2*, que codificam as subunidades do complexo TAP (transportador associado ao processamento antigênico). O TAP normalmente transporta os peptídeos do citosol para o retículo endoplasmático, onde são carregados em

moléculas do MHC de classe I (Capítulo 6). Como as moléculas do MHC vazias são degradadas intracelularmente, o nível de moléculas do MHC de classe I na superfície celular é reduzido nesses pacientes com deficiência de TAP; um fenótipo semelhante ao de camundongos deficientes para o gene TAP. Os pacientes sofrem principalmente de lesões cutâneas granulomatosas necrosantes e infecções bacterianas do trato respiratório, mas não de infecções virais, o que é surpreendente, considerando que a principal função das células T $CD8^+$ é a defesa contra os vírus. Uma deficiência semelhante na expressão do MHC de classe I foi observada em pacientes com mutações no gene que codifica a proteína tapasina (Capítulo 6).

Os pacientes com deficiência de ZAP-70 apresentam um defeito no comprometimento de linhagem, resultando na redução das células T $CD8^+$, mas com números normais de células T $CD4^+$; a razão para a perda seletiva não é clara. Embora o desenvolvimento das células T $CD4^+$ ou a emigração para a periferia não esteja comprometida, as células não proliferam normalmente quando desafiadas por antígenos.

SCID Causada por Defeito na Ativação da Célula T

Outra forma rara de SCID é causada por uma mutação no gene que codifica Orai1, um componente do canal CRAC (Capítulo 7). A sinalização do receptor antigênico desencadeia a ativação da isoforma γ da fosfolipase C (PLCγ) e a liberação de íons cálcio dependente de trifosfato de inositol (IP3) do retículo endoplasmático e mitocôndrias. O cálcio liberado é reabastecido por canais CRAC controlados por estoque que facilitam o influxo de cálcio extracelular. Esse processo é fundamental para a ativação dos linfócitos e é deficiente nas células que apresentam *ORAI1* mutante. Um fenótipo semelhante é observado em pacientes com mutações em *STIM1*, que codifica uma proteína do retículo endoplasmático que detecta a depleção dos estoques de cálcio e contribui para a abertura do canal CRAC. Os pacientes com mutações em *ORAI1* e *STIM1* não exibem um defeito no desenvolvimento de células T, mas suas células T não podem ser ativadas adequadamente.

Deficiências de Anticorpos: Defeitos no Desenvolvimento e Ativação das Células B

Enquanto os defeitos no desenvolvimento das células T ou no desenvolvimento conjunto das células T e B contribuem para o fenótipo de

SCID, defeitos mais restritos às células B resultam em doenças nas quais a anormalidade primária está na produção de anticorpos (Tabela 21.4). Algumas dessas doenças são causadas por defeitos no desenvolvimento das células B (Fig. 21.1) e outras são causadas por anormalidades na ativação da célula B e da síntese de anticorpos (Fig. 21.2). Em um subconjunto de síndromes de hiper-IgM, discutidas adiante, as deficiências de anticorpos também são acompanhadas por defeitos na ativação de macrófagos e APCs, o que, por sua vez, resulta em atenuação da imunidade mediada por células.

Tabela 21.4

Deficiências de Anticorpos

Doença	Deficiências Funcionais	Mecanismo de Defeito
Agamaglobulinemias		
Ligada ao X	Diminuição de todos os isótipos de Ig sérica; redução do número de células B	Defeito no ponto de controle do receptor pré-B; mutação no gene *BTK*
Formas autossômicas recessivas	Diminuição de todos os isotipos de Ig sérica; redução do número de células B	Defeito no ponto de controle do receptor pré-B; mutações na cadeia pesada IgM (μ), cadeia leve substituta *(λ5)*, *Igα*, *BLNK*, *P13K p85α*
Hipogamaglobulinemias/Defeitos de Isotipos		
Deficiência seletiva de IgA	Diminuição de IgA; pode estar associada ao aumento da susceptibilidade a infecções bacterianas e a protozoários, tais como *Giardia lamblia*	Mutações no gene *TACI* em alguns pacientes
Deficiência seletiva de IgG2	Aumento da susceptibilidade a infecções bacterianas	Pequena subpopulação apresenta deleção no *locus* IgH γ2
Imunodeficiência comum variável	Hipogamaglobulinemia; número de células B normal ou reduzido	Mutação nos genes *ICOS* e *TACI* em alguns pacientes
Síndrome ICF	Hipogamaglobulinemia; defeitos leves ocasionais nas células T	Mutação no gene *DNMT3B*
Síndromes de hiper-IgM		
Ligado ao X	Defeitos na ativação de células B, macrófagos e células dendríticas mediada por células T; defeitos na mutação somática, troca de classe e formação do centro germinativo; imunidade mediada por células defeituosas	Mutação no gene *CD40L*

Doença	Deficiências Funcionais	Mecanismo de Defeito
Autossômica recessiva com defeitos imunes mediados por células	Defeitos na ativação de células B, macrófagos e células dendríticas mediada por células T; defeitos na mutação somática, troca de classe e formação do centro germinativo; imunidade mediada por células defeituosas	Mutações nos genes *CD40* e *NEMO*
Autossômica recessiva com defeito de anticorpos somente	Defeitos na mutação somática e troca de isotipos	Mutações nos genes *AID* e *UNG*

AID, citidina desaminase induzida por ativação; *Btk*, tirosina quinase de Bruton; *DNMT3B*, DNA metiltransferase 3B; *ICF*, imunodeficiências-instabilidade centromérica-anomalias faciais; *ICOS*, coestimulator induzível; *Ig*, imunoglobulina; *NEMO*, modulador essencial do NF-κB; *TACI*, ativador transmembrana e modulador de cálcio que interage com o ligante de ciclofilina; *UNG*, uracil N-glicosilase.

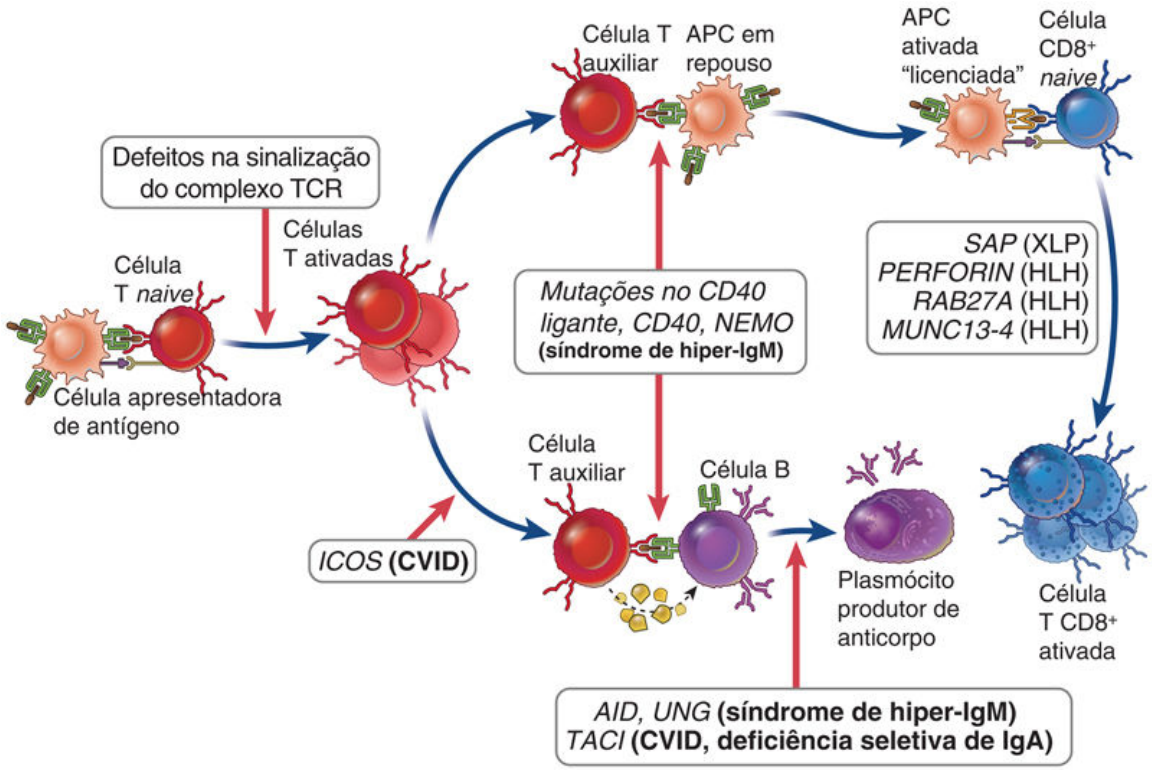


FIGURA 21.2 Imunodeficiência causada por defeitos na ativação das células T e B.
As imunodeficiências primárias podem ser causadas por defeitos genéticos em moléculas necessárias para a sinalização do receptor antigênico do linfócito B ou T, para ativação de células B e APCs mediada por células T auxiliares, ou para ativação de linfócitos T citotóxicos ou células NK. *CVID*, Imunodeficiência comum variável; *HLH*, linfo-histiocitose hemafagocítica.

Agamaglobulinemia Ligada ao X: Um Defeito na Sinalização Pré-Bcr Ligada ao X

A agamaglobulinemia ligada ao X, também chamada agamaglobulinemia de Bruton, é causada por mutações ou deleções no gene que codifica uma enzima chamada tirosina quinase de Bruton (Btk, do inglês,* Bruton tyrosine kinase*), as quais resultam na falha de amadurecimento das células B após o estágio de células pré-B na medula óssea (Fig. 21.1). A doença é caracterizada pela ausência anticorpos (gamaglobulinas) no sangue, conforme indica o nome. É uma das imunodeficiências congênitas mais comuns e o protótipo de uma falha na maturação das células B. A Btk está envolvida na transdução de sinais do pré-BCR que são necessários para a sobrevivência e diferenciação de células pré-B (Capítulo 8). Em

mulheres portadoras da doença, as únicas células B maduras são aquelas que têm o cromossomo X portador do alelo mutante inativo. Pacientes com agamaglobulinemia ligada ao X geralmente apresentam Ig sérica baixa ou indetectável, redução ou ausência de células B no sangue e tecidos linfoides periféricos, ausência de centros germinativos dos linfonodos e de plasmócitos nos tecidos. A maturação, número e funções das células T geralmente estão normais, embora alguns estudos tenham revelado redução do número de células T ativadas nesses pacientes, o que pode ser uma consequência da apresentação de antígenos reduzida causada pela falta de células B. Doenças autoimunes, tais como artrite, desenvolvem-se em quase 20% dos pacientes; os mecanismos responsáveis pela falha da autotolerância permanecem desconhecidos. A Btk também é relevante para a ativação de células mieloides, e a suscetibilidade a infecções pode refletir a ausência total ou quase absoluta de anticorpos, além de também resultar da função imune inata defeituosa. As complicações infecciosas da agamaglobulinemia ligada ao X são bastante reduzidas pela administração periódica (p. ex.: semanal ou mensal) de injeções de preparações contendo um *pool* de IgG. Essas preparações contêm anticorpos pré-formados contra patógenos comuns e conferem uma imunidade passiva eficiente.

Defeitos Autossômicos Recessivos em Pontos de Controle do Pré-BCR

Formas autossômicas recessivas de agamaglobulinemia foram descritas e a maioria delas pode estar associada a defeitos na sinalização do pré-BCR. Mutações gênicas que foram identificadas nesse contexto incluem os genes que codificam a cadeia pesada μ (IgM), a cadeia leve substituta $\lambda 5$, a Igα (um componente de sinalização do pré-BCR e do BCR), a subunidade p85α de quinase PI3 e BLNK (uma proteína adaptadora *downstream* ao pré-BCR e BCR).

Deficiências Seletivas de Isotipos de Imunoglobulina

Muitas imunodeficiências que envolvem seletivamente um ou alguns isotipos de Ig foram descritas. A mais comum é a **deficiência seletiva de IgA**, que afeta cerca de 1 em 700 indivíduos de descendência caucasiana, e assim representa a imunodeficiência primária mais comum na América do Norte e Europa. A deficiência de IgA geralmente ocorre de maneira esporádica, mas muitos casos familiares com padrões de herança autossômica recessiva ou autossômica dominante também são conhecidos.

As manifestações clínicas são variáveis. Muitos pacientes são totalmente normais; outros apresentam infecções respiratórias e diarreia ocasionais; e raramente, os pacientes apresentam infecções graves e recorrentes que provocam lesões permanentes no intestino e nas vias aéreas, associadas a doenças autoimunes. Essas manifestações refletem a importância da IgA secretora na proteção das barreiras mucosas dos microrganismos comensais e patogênicos (Capítulo 14). A deficiência de IgA é caracterizada por baixos níveis séricos de IgA, geralmente inferiores a 50 μg/mL (o normal é de 2 a 4 mg/mL), com níveis normais ou elevados de IgM e IgG e pouca IgA nas secreções de mucosas. O defeito nesses pacientes é um bloqueio na diferenciação de células B em plasmócitos secretores de anticorpos IgA. Os genes de cadeia pesada α e a expressão de IgA associada à membrana são normais. Não foram percebidas alterações nos números, fenótipos, ou respostas funcionais gerais das células T nesses pacientes. Em uma pequena proporção de pacientes com deficiência seletiva de IgA, foram descritas mutações no gene *TACI* (ativador transmembrana e modulador de cálcio que interage com o ligante de ciclofilina, do inglês, *transmembrane activator and calcium modulator and cyclophilin ligand interactor*), um dos três tipos de receptores para as citocinas BAFF (fator de ativação das células B, do inglês, *B cell-activating factor*) e APRIL (um ligante indutor de proliferação, do inglês, *a proliferation-inducing ligand*), que estimulam a sobrevivência e a proliferação das células B. As mutações em *TACI* também são uma importante causa de imunodeficiência comum variável (CVID, do inglês *common variable immunodeficiency*), discutida mais adiante.

Deficiências seletivas das subclasses de IgG foram descritas, onde os níveis totais de IgG sérica estão normais, mas as concentrações de uma ou mais subclasses estão abaixo do normal. A deficiência de IgG3 é a deficiência de subclasse mais comum em adultos, e a deficiência de IgG2 associada à deficiência de IgA é mais comum em crianças. Alguns indivíduos com essas deficiências desenvolvem infecções bacterianas recorrentes, mas muitas não apresentam quaisquer problemas clínicos. Deficiências seletivas das subclasses de IgG geralmente devem-se à diferenciação anormal de células B e raramente a deleções em homozigose de vários genes da região constante (Cγ).

Defeitos na Diferenciação de Células B: Imunodeficiência Comum Variável (CVID)

A CVID é um grupo heterogêneo de doenças definidas por níveis séricos reduzidos de Ig, falha na resposta de anticorpos às infecções e vacinas e aumento da incidência de infecções. A CVID é a imunodeficiência mais comum observada em adolescentes e adultos jovens. O diagnóstico geralmente é realizado por exclusão, quando outras doenças de imunodeficiências primárias são descartadas. A apresentação e a patogênese são, como o nome sugere, altamente variáveis. O diagnóstico é realizado com base na detecção de níveis séricos muito baixos de IgG, IgM e/ou IgA reduzidos e respostas fracas de anticorpos a vacinas, com exclusão de causas conhecidas de hipogamaglobulinemia. A prevalência em populações caucasianas é estimada entre 1/10.000 e 1/50.000. Embora a deficiência de Ig e as infecções piogênicas associadas, tipicamente por *H. influenzae* e *S. pneumoniae*, sejam os principais componentes desse distúrbio, as doenças autoimunes, incluindo anemia perniciosa, anemia hemolítica, enteropatia inflamatória e artrite reumatoide, podem ser também clinicamente significativas. Uma elevada incidência de tumores malignos, particularmente linfomas, também está associada à CVID. Esses distúrbios podem ser diagnosticados cedo na infância ou mais tarde na vida. A maioria dos casos são esporádicos, embora 5-25% dos pacientes tenham histórico familiar da doença. As formas monogênicas de CVID exibem herança autossômica dominante, embora alguns pacientes apresentem herança autossômica recessiva. Os linfócitos B maduros estão presentes, mas as células B de memória estão geralmente reduzidas no sangue, enquanto os plasmócitos estão ausentes nos tecidos linfoides, sugerindo um bloqueio na diferenciação das células B em células de memória e secretoras de anticorpos. A produção defeituosa de anticorpos tem sido atribuída a múltiplas anormalidades, incluindo defeitos intrínsecos das células B ou ajuda deficiente das células T.

As causas monogênicas respondem por aproximadamente 10% de todos os casos de CVID. Até o momento, mutações em aproximadamente 25 genes diferentes foram demonstradas como tendo relevância causal com a CVID em pacientes. As mutações em *TACI*, descritas anteriormente no contexto da deficiência seletiva de IgA, foram descritas em muitos casos. Uma pequena proporção de pacientes com CVID carrega uma mutação no do gene *ICOS* (coestimulador induzivel de células T, do inglês, *inducible T cell costimulator*). O ICOS é necessário para a geração das células T auxiliares foliculares (Capítulo 12). Alguns casos de CVID estão associados a mutações no gene *CD19*. O CD19 é um componente de sinalização do complexo correceptor CR2 (CD21) (Capítulo 7). Foi mostrado que muitos outros genes estão mutados em pacientes com CVID, e a lista de genes

mutados está crescendo. Mesmo em pacientes nos quais o gene mutado é identificado, o padrão de herança é frequemente mais complexo do que nas doenças mendelianas comuns.

Defeitos na Ativação da Célula B Dependente da Célula T: Síndromes de Hiper-IgM

A síndrome de hiper-IgM ligada ao X é causada por mutações no gene que codifica a molécula efetora da célula T CD40 -ligante (CD40L ou CD154). A síndrome de hiper-IgM é uma doença rara associada a um defeito na troca para os isotipos IgG e IgA em células B; a produção desses anticorpos está, portanto, reduzida, e o principal isotipo detectado no sangue é IgM. As formas mutantes de CD40L produzidas nesses pacientes não se ligam nem transduzem sinal ao interagirem com CD40 e, portanto, não estimulam as células B a prosseguirem com a troca de isotipo da cadeia pesada, o que requer o acoplamento de CD40 nas células B com o CD40L nas células T auxiliares (Capítulo 12). Os pacientes sofrem de infecções semelhantes àquelas observadas em outras hipogamaglobulinemias. Os pacientes com síndrome de hiper-IgM ligada ao X também apresentam defeitos na imunidade mediada por células, com um aumento da susceptibilidade à infecção pelo microrganismo fúngico intracelular *P. jiroveci*. Esse defeito na imunidade mediada por células ocorre porque o CD40L e o CD40 também estão envolvidos na ativação de macrófagos e células dendríticas dependentes de células T (Capítulo 10). Camundongos deficientes para CD40 ou para CD40L apresentam fenótipo semelhante àquele observado na doença humana.

Casos raros de síndrome de hiper-IgM exibem um padrão de herança autossômica recessiva. Nesses pacientes, os defeitos genéticos podem estar no CD40 ou na enzima desaminase induzida por ativação (AID, do inglês, *activation-induced deaminase*), envolvida na troca de isotipo de cadeia pesada e na maturação por afinidade (Capítulo 12). Uma forma ainda mais rara de síndrome de hiper-IgM é causada por mutações autossômicas recessivas no gene codificador de uracila N-glicosilase (UNG; Capítulo 12), uma enzima que remove os resíduos de uracila dos genes de Ig durante a troca de classe e a mutação somática. Uma doença hereditária, a EDA-ID, na qual mutações hipomórficas em *NEMO* contribuem para um estado de hiper-IgM, bem como para defeitos em estruturas de origem ectodérmica, foi descrita anteriormente nesta seção sobre os defeitos na imunidade inata.

Mutações nos genes *AID* e *UNG* afetam a recombinação de troca de classe e hipermutação somática de maneiras distintas. Na ausência de AID, tanto a troca de classe como a hipermutação estão defeituosas, porque a AID é necessária para ambos os processos. Na ausência de UNG, a troca de isotipo é defeituosa, mas a hipermutação somática está amplamente preservada, embora exiba menos mutações A:T do que o normal.

Defeitos na Ativação e Função dos Linfócitos T

As anormalidades congênitas da ativação dos linfócitos T estão sendo cada vez mais reconhecidas, à medida que nosso conhecimento sobre as bases moleculares da ativação dos linfócitos aumenta (Tabela 21.5). Incluem-se nessa ampla categoria alguns distúrbios de composição dos grânulos ou de exocitose do CTL e da célula NK. Embora as doenças associadas à expressão defeituosa do MHC estejam classificadas como distúrbios ligados ao desenvolvimento de células T, essas anormalidades também resultam em defeitos na ativação das células T que amadurecem e emergem do timo.

Tabela 21.5

Defeitos na Ativação das Células T

Doença	Deficiência Funcional	Mecanismo de Defeito
Defeitos na Sinalização das Células T		
Defeitos na sinalização proximal do TCR	Defeitos na imunidade mediada por célula e imunidade humoral dependente de células T	Mutação nos genes *CD3*, *CD45*, *STIM1*, *ORAI1*
Síndrome de Wiskott-Aldrich Doença autossômica recessiva do tipo WAS	Deficiência na ativação das células T e na mobilidade de leucócitos	Rearranjos do citoesqueleto de actina dependente do TCR estão defeituosos em razão das mutações no gene *WASP*, ou menos frequentemente no gene *WIP* que codifica a proteína de interação com WASP
Síndromes de hiper-IgE	Defeitos nas células Th17 e ILC3	Mutações nos genes *STAT3* e *DOCK8*
Linfo-histiocitose Hemofagocítica Familiar		
Síndrome linfoproliferativa ligada ao X	Proliferação de células B descontrolada induzida por EBV, ativação descontrolada de macrófagos e CTLs, defeitos nas células NK e função de CTLs	Mutações no gene *SAP* Mutações no gene *X-IAP*
Síndrome de imunodeficiência ligada ao X com defeitos de magnésio-infecção por EBV-neoplasia	Viremia de EBV descontrolada e linfoma	Mutações no gene *MAGT1*
Deficiências de perforinas	Ativação descontrolada de macrófagos e ativação de CTL, defeitos na função de células NK e de CTLs	Mutações no gene *PERFORIN*
Fusão de grânulos	Ativação descontrolada de macrófagos e ativação de CTL, defeitos na função de células NK e de CTLs	Exocitose defeituosa dos grânulos citotóxicos; mutações nos genes *RAB27A*, *MUNC13-4*, *SYNTAXIN*, *AP3* (e no gene *LYST* na síndrome de Chédiak-Higashi – ver Tabela 21.2)

AP3, complexo proteico relacionado ao adaptador 3; *CTL*, linfócito T citotóxico; *EBV*, vírus Epstein-Barr; *LYST*, proteína reguladora do tráfego lissossômico; *MHC*, complexo principal de histocompatibilidade; *células NK*, células *natural killer*; *SAP*, proteína associada a SLAM (do inglês *SLAM-associated protein*); *TAP*, transportador associado ao processamento antigênico; *TCR*, receptor de células T; *WASP*, proteínas da síndrome de Wiskott-Aldrich.

Defeitos na Transdução de Sinal do TCR

Muitas doenças de imunodeficiências raras são causadas por defeitos na expressão de moléculas necessárias para a ativação e função das células T. Análises bioquímicas e moleculares de indivíduos afetados revelaram mutações em genes que codificam várias proteínas das células T (Tabela 21.5). Entre os exemplos estão a expressão ou função comprometidas do complexo TCR causadas por mutações nos genes *CD3* ε ou γ, a sinalização defeituosa mediada pelo TCR causada por mutações no gene *ZAP70*, a redução da síntese de citocinas, como IL-2 e IFN-γ (causada em alguns casos por defeitos em fatores de transcrição) e a ausência da expressão de cadeias do receptor de IL-2. Esses defeitos são frequentemente encontrados em apenas alguns casos isolados ou em algumas famílias, sendo que as características clínicas e a gravidade variam bastante. Os pacientes com estas alterações podem apresentar deficiências predominantemente na função das células T ou imunodeficiências mistas de células T e B, apesar dos números normais ou mesmo elevados de linfócitos sanguíneos. Já foi mencionado o impacto de mutações afetando o complexo CD3, LCK e outras proteínas no desenvolvimento das células T; o efeito das mutações em *ZAP70* no desenvolvimento de células T $CD8^+$; o papel das mutações em *LCK* e *UNC119* no desenvolvimento de células T $CD4^+$; e a relevância das mutações em *ORAI1* e *STIM1* na ativação das células T, todas no contexto clínico da SCID. Outras síndromes que envolvem a ativação defeituosa de células T maduras são consideradas aqui.

Síndrome de Wiskott-Aldrich

Graus variáveis de imunodeficiência de células T e B ocorrem em determinadas doenças congênitas com um amplo espectro de anormalidades envolvendo múltiplos sistemas de órgãos. Um distúrbio dessa categoria é a síndrome de Wiskott-Aldrich, uma doença ligada ao X, caracterizada por eczema, trombocitopenia (redução de plaquetas sanguíneas) e susceptibilidade à infecção bacteriana. Algumas

anormalidades dessa doença podem ser rastreadas pelos defeitos na ativação das células T, embora a perda intrínseca da função das células B também contribua para a patogênese. Nas fases iniciais da doença, o número de linfócitos está normal e o principal defeito é a incapacidade de produzir anticorpos em resposta a antígenos polissacarídeos independentes de células T, razão pela qual esses pacientes são especialmente suscetíveis a infecções por bactérias encapsuladas. Os linfócitos (e as plaquetas) são menores do que o normal. À medida que a idade aumenta, os pacientes apresentam redução do número de linfócitos e imunodeficiência mais grave.

O gene alterado na síndrome de Wiskott-Aldrich codifica uma proteína citoplasmática chamada proteína da síndrome de Wiskott-Aldrich (WASP, *Wiskott-Aldrich symdrome protein*), expressa exclusivamente em células derivadas da medula óssea. A WASP interage com diversas proteínas, incluindo moléculas adaptadoras *downstream* ao receptor antigênico tais como a Grb-2 (Capítulo 7), o complexo Arp2/3 envolvido na polimerização da actina e as pequenas proteínas G da família Rho que regulam o rearranjo do citoesqueleto de actina. A formação defeituosa de sinapses imunológicas entre as células T e as células apresentadoras de antígeno resultam em fraca ativação dos linfócitos e mobilidade comprometida de todos os leucócitos, o que explica a imunodeficiência observada nesta síndrome. Uma doença autossômica recessiva que se assemelha à síndrome de Wiskott-Aldrich foi descrita. Essa doença é causada por mutações no gene codificador da WIP (proteína de interação com WASP, do inglês, *WASP-interacting protein*), uma proteína que liga-se a WASP e a estabiliza.

Síndromes de Hiper-IgE

As síndromes de hiper-IgE (HIES, do inglês, *hyper-IgE syndromes*), também conhecidas como síndrome de Jó, representam um conjunto de síndromes de imunodeficiências primárias nas quais os pacientes apresentam eczema, eosinofilia, infecções pulmonares recorrentes e abcessos cutêneos causados por estafilococos e fungos. Sua nomenclatura antiga, síndrome de Jó, se baseou na descrição bíblica: “Saiu, pois, Satanás da presença do Senhor e afligiu Jó com feridas terríveis, da sola dos pés ao alto da cabeça.” Uma forma autossômica dominante de HIES resulta de mutações dominantes negativas em heterozigose do fator de transcrição STAT3, resultando em respostas Th17 defeituosas (Capítulo 10). Outra causa autossômica recessiva de HIES resulta de mutações no gene que codifica DOCK8, um

fator de troca do nucleotídeo guanina. Mutações no gene *DOCK8* resultam em números reduzidos de células T, células B e células NK, e defeitos na sinalização de linfócitos e rearranjos do citoesqueleto que se assemelham àqueles observados na síndrome de Wiskott-Aldrich. Embora o nome dessa síndrome enfatize os níveis elevados de IgE no sangue, as base dessa anormalidade é desconhecida.

Síndrome Linfoproliferativa Ligada ao X

A síndrome linfoproliferativa ligada ao X (XLP, do inglês, X-linked lymphoproliferative) é um distúrbio caracterizado pela incapacidade de eliminar o EBV, levando eventualmente à mononucleose infecciosa fulminante e ao desenvolvimento de linfomas de células B. Em aproximadamente 80% dos casos, a doença é causada por mutações no gene que codifica uma molécula adaptadora chamada proteína associada à molécula de sinalização da ativação do linfócito (SAP, do inglês, *signaling lymphocyte activation molecule [SLAM]-associated protein*) que se liga a uma família de moléculas da superfície celular envolvidas na ativação de células NK e de linfócitos T e B. A SAP medeia a ligação de SLAM e 2B4 (Capítulo 7) à quinase Fyn da família Src. Defeitos na SAP contribuem para o enfraquecimento da ativação de células T e NK, resultando no aumento da susceptibilidade a infecções virais. Como discutido no Capítulo 12, a SAP é necessária para o desenvolvimento das células T auxiliares foliculares (Tfh, do inglês, *T follicular helper*), e a incapacidade dos pacientes com XLP de produzir centros germinativos e anticorpos de alta afinidade provavelmente também contribui para a hipogamaglobulinemia e susceptibilidade a infecções virais associadas. Em aproximadamente 20% dos casos de XLP, o defeito genético não está na SAP, mas no gene que codifica o inibidor de apoptose ligado ao X (XIAP, do inglês, *X-linked inhibitor of apoptosis*). O aumento da apoptose de células T e células NKT resultante provoca uma depleção acentuada destes tipos celulares. A imunodeficiência manifesta-se mais comumente por meio de graves infecções oportunistas pelo EBV.

Síndrome de Imunodeficiência Ligada ao X com Defeitos de Magnésio-infecção por EBV-neoplasia

As mutações no gene do cromossomo X que codifica a proteína transportadora de magnésio 1 (MAGT1, do inglês *magnesium transporter protein 1*) resultam em um defeito na função de células NK e de CTL, e

também contribuem para a linfopenia de células T $CD4^+$. Os pacientes apresentam infecções recorrentes por EBV e por outros microrganismos, além de linfomas. Esse distúrbio é conhecido como síndrome de imunodeficiência ligada ao X com defeitos de magnésio-infecção por EBV-neoplasia (XMEN, do inglês, *X-linked immunodeficiency-magnesium defects-EBV infection-neoplasia*). Os níveis intracelulares de magnésio livre induzidos durante a ativação de células T e NK pela MAGT1 contribuem para a ativação da PLCγ nessas células e ajudam a mediar a sinalização de cálcio subsequente. O defeito na sinalização celular pode ser restaurado pela suplementação da dieta com magnésio. As células B (que têm altos níveis de PLCγ2, uma isoforma diferente de PLCγ) não são afetadas pela ausência desse transportador. Essa doença tem ajudado a criar uma apreciação da necessidade de magnésio na ativação das células T.

Defeitos na Função dos CTL e das Células NK: Síndromes Familiares de Linfo-histiocitose Hemofagocítica

As síndromes de linfo-histiocitose hemofagocítica (HLH, do inglês,* hemophagocytic lymphohistiocytosis*) constituem um grupo de doenças de imunodeficiência potencialmente fatais, nas quais as células NK e os CTLs apresentam defeitos em sua capacidade de matar células infectadas. Como resultado, as infecções virais não são mantidas sob controle e a ativação compensatória excessiva dos macrófagos é uma característica dessas síndromes. Em decorrência dessa característica, outro nome para estas doenças é **síndrome de ativação do macrófago**. Uma característica tardia, mas marcante desses transtornos, é a ingestão de hemácias por macrófagos ativados (hemofagocitose). As mutações no gene *perforina* são a causa mais comum de HLH, mas mutações em genes que codificam a maquinaria celular envolvida na exocitose de grânulos são encontradas em alguns casos da síndrome. Especificamente, as mutações no gene *RAB27A*, uma pequena guanosina trifosfatase envolvida na fusão vesicular, e no gene *MUNC13-4*, que codifica um adaptador que participa na exocitose de grânulos, comprometem a fusão dos grânulos líticos com a membrana plasmática e assim contribuem para vários subtipos de HLH. Da mesma forma, mutações no gene de um dos componentes do complexo proteico do adaptador citosólico AP-3 também podem interromper o transporte intracelular e contribuir para uma forma de HLH. Acredita-se que as células T e as células NK respondam aos microrganismos persistentes através da secreção de IFN-γ, mas na ausência de atividade citotóxica, os

CTL e as células NK não conseguem eliminar as infecções, e a excessiva ativação de macrófagos mediada por IFN-γ se manifesta por meio de hemofagocitose e linfadenopatia no contexto da imunodeficiência.

Distúrbios Multissistêmicos com Imunodeficiência

A imunodeficiência geralmente é uma constelação de sintomas presentes em inúmeras doenças hereditárias. Exemplos dessas síndromes discutidas anteriormente incluem a síndrome de Chédiak-Higashi, a síndrome de Wiskott-Aldrich e a síndrome de DiGeorge.

Ataxia Telangiectasia

A ataxia-telangiectasia é uma doença autossômica recessiva caracterizada por marcha anormal (ataxia), má-formações vasculares (telangienctasias), deficit neurológicos, incidência aumentada de tumores e imunodeficiência. A doença é causada por mutações em um gene que codifica uma proteína quinase chamada ATM (ataxia-telangiectasia mutada). Os defeitos imunológicos são de gravidade variável e podem afetar tanto células B como células T. Os defeitos imunológicos humorais mais comuns são as deficiências de IgA e de IgG2, provavelmente em função do papel crucial de ATM na recombinação de troca de classe. Os defeitos das células T, que geralmente são menos pronunciados, estão associados à hipoplasia tímica. Os pacientes apresentam infecções bacterianas do trato respiratório superior e inferior, múltiplos fenômenos autoimunes e cânceres cada vez mais frequentes com o avançar da idade.

A ATM é estruturalmente relacionada a PI3-quinase e ativa os pontos de controle do ciclo celular e apoptose em resposta a quebras da dupla-fita do DNA. Também tem sido mostrada sua função na estabilidade dos complexos de quebra da dupla-fita do DNA durante a recombinação V(D)J. Na ataxia-telangiectasia, essas anormalidades no reparo do DNA explicam a geração anormal de receptores antigênicos. Além disso, a ATM contribui para a estabilidade do DNA quando as quebras na dupla-fita de DNA são geradas no decorrer da recombinação de troca de classe da Ig, e mutações no gene *ATM* resultam em uma troca de classe defeituosa e níveis reduzidos de IgG, IgA e IgE.

Abordagens Terapêuticas para Imunodeficiências Congênitas

Os tratamentos para as imunodeficiências têm dois objetivos: minimizar e controlar as infecções, e substituir os componentes defeituosos ou ausentes do sistema imunológico por meio da reposição de anticorpos ou do transplante de células-tronco. A imunização passiva com *pool* de gamaglobulinas é muito benéfica para os pacientes agamaglobulinêmicos, salvando a vida de muitos meninos com agamaglobulinemia ligada ao X. O transplante de células-tronco hematopoéticas é atualmente o tratamento de escolha para muitas doenças de imunodeficiência e tem sido bem-sucedido no tratamento de SCID por deficiência de ADA, síndrome de Wiskott-Aldrich, síndrome do linfócito nu e LADs. É mais bem-sucedido quando se tem depleção cuidadosa de células T da medula e compatibilidade de HLA para prevenir a doença do enxerto-*versus*-hospedeiro (Capítulo 17). A terapia de reposição enzimática para a deficiência de ADA é comum. A injeção de ADA bovina conjugada com polietilenoglicol para prolongar sua meia- -vida sérica tem se provado positiva em alguns casos, mas os benefícios são normalmente de curta duração.

Em teoria, a terapia ideal para as doenças congênitas dos linfócitos é a substituição do gene defeituoso em células-tronco autorrenováveis. A substituição gênica se mostrou bem- -sucedida para algumas doenças de imunodeficiências. Os principais obstáculos para esse tipo de terapia gênica são as dificuldades de purificação das células-tronco autorrenováveis, que são os alvos ideais para a introdução do gene substituto, e a introdução de genes em células de forma a alcançar uma expressão estável, de longa duração e de alto nível. Além disso, os receptores do transplante devem ser condicionados por meio de depleção das células da medula óssea para permitir a fixação das células-tronco transplantadas, e isso acarreta riscos potenciais devido à redução transitória das células sanguíneas. Um progresso considerável foi alcançado na terapia gênica para a deficiência de ADA e a SCID ligada ao X pelo uso de uma abordagem de condicionamento leve. Pacientes com SCID ligada ao X foram tratados com sucesso por meio do transplante de células de medula óssea autólogas modificadas para expressar um gene γc normal. Nos ensaios iniciais, um pequeno número de pacientes tratados desenvolveram leucemia, aparentemente porque o gene γc introduzido se inseriu de maneira adjacente a um oncogene, ativando-o. O desenvolvimento de vetores lentivirais de autoinativação mais recentes reduziu o risco de mutagênese por inserção, e isso levou a uma terapia gênica bem-sucedida para ADA-SCID e SCID ligada ao X.

Imunodeficiências Secundárias (Adquiridas)

As deficiências do sistema imunológico frequentemente se desenvolvem em decorrência de normalidades que não são genéticas, mas adquiridas ao longo da vida (Tabela 21.6). As doenças de imunodeficiência adquirida são, de fato, mais comuns do que as imunodeficiências congênitas e são causadas por uma variedade de mecanismos patogênicos. Primeiro, a imunossupressão pode ocorrer como uma complicação biológica de outro processo patológico. Segundo, as chamadas imunodeficiências iatrogênicas podem se desenvolver como complicações da terapia de outras doenças. Terceiro, a imunodeficiência pode resultar de uma infecção que tem como alvo as células do sistema imune. A mais importante destas é a infecção pelo HIV, que é descrita separadamente mais adiante no capítulo.

Tabela 21.6

Imunodeficiências Secundárias (Adquiridas)

Causa	Mecanismo
Infecção pelo HIV	Depleção das células T $CD4^+$
Desnutrição proteico-calórica	Desarrranjo metabólico inibe a maturação e a função dos linfócitos
Irradiação e quimioterapia para o câncer	Diminuição dos precursores de linfócitos na medula óssea
Metástases do câncer e leucemia envolvendo a medula óssea	Redução do sítio de desenvolvimento dos leucócitos
Imunossupressão por transplantes, doenças autoimunes	Redução da ativação de linfócitos, bloqueio de citocinas, tráfego dos leucócitos prejudicado
Perda do baço em razão de trauma, doença falciforme ou cirurgia	Diminuição da fagocitose de bactérias transmitidas pelo sangue

As doenças nas quais a imunodeficiência é um elemento complicador frequente incluem desnutrição, neoplasias e infecções. A desnutrição proteico-calórica é comum nos países em desenvolvimento e está associada à imunidade celular e humoral debilitada aos microrganismos. Grande parte da morbidade e mortalidade que atinge as pessoas desnutridas deve-se às infecções. A base para a imunodeficiência não está

bem definida, mas é razoável presumir que os distúrbios metabólicos globais nesses indivíduos, causados pela ingestão deficiente de proteína, gordura, vitaminas e minerais afetarão de forma adversa a maturação e a função das células do sistema imune.

Pacientes com câncer generalizado avançado são normalmente suscetíveis à infecção em decorrência do comprometimento da resposta imune celular e humoral a vários microrganismos. Tumores da medula óssea, incluindo os cânceres com metástases para a medula óssea e as leucemias que se desenvolvem na medula, podem interferir no crescimento e desenvolvimento de linfócitos normais e de outros leucócitos. Além disso, os tumores podem produzir substâncias que interferem no desenvolvimento ou na função dos linfócitos.

Vários tipos de infecções levam à imunossupressão. Alguns vírus, além do HIV, são conhecidos por prejudicar as respostas imunes; exemplos deles incluem o vírus do sarampo e o vírus linfotrópico de células T humanas tipo 1 (HTLV-1, do inglês, *human T cell lymphotropic vírus 1*). Ambos os vírus podem infectar os linfócitos, o que pode ser a base para os seus efeitos imunossupressores. Assim como o HIV, o HTLV-1 é um retrovírus com tropismo para as células T $CD4^+$; no entanto, em vez de matar as células T auxiliares, esse vírus induz uma transformação que produz uma neoplasia maligna agressiva chamada leucemia/linfoma de células T do adulto (ATL, do inglês, *adult T cell leucemia/lymphoma*). Os pacientes com ATL normalmente desenvolvem uma imunossupressão grave com múltiplas infecções oportunistas. Infecções crônicas por *Mycobacterium tuberculosis* e vários fungos frequentemente resultam em anergia a muitos antígenos. Infecções parasitárias crônicas também podem levar à imunossupressão. Por exemplo, crianças africanas com malária crônica apresentam depressão da função das células T, e essa pode ser uma razão pela qual essas crianças têm maior propensão a desenvolver tumores malignos associados ao EBV.

A imunossupressão iatrogênica é mais frequentemente causada por terapias com fármacos que eliminam ou inativam funcionalmente os linfócitos, ou bloqueiam a função de citocinas produzidas pelas células imunes inatas e pelos linfócitos. Alguns fármacos são administrados intencionalmente para imunossuprimir os pacientes, seja para o tratamento de doenças inflamatórias ou para prevenir a rejeição de aloenxertos de órgãos. Os fármacos anti-inflamatórios e imunossupressores mais comumente usados são os corticosteroides e a ciclosporina, respectivamente, mas muitos outros, incluindo anticorpos anticitocinas, são amplamente utilizados agora (Capítulos 17 e 19). Vários

fármacos quimioterápicos são administrados a pacientes com câncer, e esses medicamentos geralmente são citotóxicos para células em proliferação, incluindo linfócitos maduros e em desenvolvimento, bem como para outros precursores de leucócitos. Assim, a quimioterapia para o câncer é quase sempre acompanhada por um período de imunossupressão e risco de infecção. A imunossupressão iatrogênica e os tumores que envolvem a medula óssea são as causas mais comuns de imunodeficiência nos países desenvolvidos.

Uma outra forma de imunodeficiência adquirida resulta da ausência do baço causada pela remoção cirúrgica do órgão após um trauma, bem como pelo tratamento de certas doenças hematológicas, tais como a anemia hemolítica autoimune e a trombocitopenia, nas quais as hemácias e as plaquetas, respectivamente, são destruídas por fagócitos no baço, ou ainda, por infarto na doença das células falciformes. Pacientes sem o baço são mais suscetíveis a infecção por alguns organismos, particularmente bactérias como pneumococos e meningococos, as quais têm cápsulas ricas em polissacarídeos e normalmente são removidas por opsonização e fagocitose. Essa susceptibilidade aumentada deve-se, em parte, ao defeito da eliminação fagocitária de microrganismos no sangue, uma importante função do baço, e em parte, às respostas defeituosas de anticorpos resultantes da ausência de células B da zona marginal.

Vírus da Imunodeficiência Humana e a Síndrome da Imunodeficiência Adquirida

A AIDS é a doença causada pela infecção com HIV e caracteriza-se por uma profunda imunossupressão com infecções oportunistas e tumores malignos associados, emaciação e degeneração do SNC. O HIV infecta primariamente células do sistema imunológico, incluindo células T $CD4^+$ auxiliares, macrófagos e células dendríticas. O HIV evoluiu como um patógeno humano muito recentemente em relação à maioria dos outros patógenos humanos conhecidos e a epidemia do HIV foi identificada pela primeira vez somente na década de 1980. Entretanto, o grau de morbidade e mortalidade causado pelo HIV e o impacto global desta infecção nos recursos de assistência médica e na economia já são enormes e continuam a crescer. O HIV já infectou entre 50 e 60 milhões de pessoas e causou a morte de mais de 34 milhões de adultos e crianças. Aproximadamente 37 milhões de pessoas vivem com a infecção pelo HIV e a AIDS, dentre os quais aproximadamente 70% estão na África e 20% na Ásia, e quase 1 a 2 milhões morrem em decorrência da doença a cada ano. A doença é particularmente devastadora porque cerca de metade dos aproximadamente 3 milhões de novos casos anuais ocorrem em adultos jovens (entre 15 e 24 anos de idade). A AIDS já deixou cerca de 14 milhões de órfãos. Atualmente, não existe vacina ou cura permanente para a AIDS, mas fármacos antirretrovirais bastante eficazes foram desenvolvidos, capazes de controlar a infecção. Nesta seção do capítulo, descrevemos as propriedades do HIV, a patogênese da imunodeficiência induzida pelo HIV, e as características clínicas e epidemiológicas de doenças relacionadas ao HIV.

Características Moleculares e Biológicas do HIV

O HIV é um membro da família dos lentivírus de retrovírus animais. Os lentivírus, incluindo o vírus Visna de ovinos e bovinos, e o vírus da imunodeficiência felina e símia são capazes de desencadear uma infecção latente de longo prazo nas células e efeitos citopáticos de curto prazo, sendo que todos são causadores de doenças fatais de progressão lenta, que incluem síndromes de emaciação e degeneração do SNC. Dois tipos de HIV intimamente relacionados, denominados de HIV-1 e HIV-2, foram

identificados. O HIV-1 é, de longe, a causa mais comum de AIDS; o HIV-2, que difere em estrutura genômica e antigenicidade, causa uma forma de AIDS de progressão mais lenta do que a doença associada ao HIV-1.

Estrutura e Genes do HIV

Uma partícula infecciosa do HIV consiste de duas fitas idênticas de RNA empacotadas dentro de um núcleo de proteínas virais e circundadas por um envelope composto por uma bicamada fosfolipídica derivada da membrana da célula hospedeira, mas incluindo proteínas de membrana codificadas pelo vírus (Fig. 21.3). O genoma de RNA do HIV é de aproximadamente 9,2 kb de comprimento e apresenta um arranjo básico de sequências de ácido nucleico característico de todos os retrovírus conhecidos (Fig. 21.4). As repetições terminais longas (LTRs, do inglês, *long terminal repeats*) em cada extremidade do genoma regulam a expressão dos genes virais, a integração viral no genoma do hospedeiro e a replicação viral. A sequência *gag* codifica proteínas estruturais do núcleo. A sequência *env* codifica as glicoproteinas gp120 e gp41 do envelope, que estão não covalentemente associadas uma à outra e são necessárias para a infecção das células. A sequência *pol* codifica as enzimas virais transcriptase reversa, integrase e protease, que são necessárias para a replicação viral. Além desses genes retrovirais típicos, o genoma do HIV-1 contém seis outros genes reguladores a saber: os genes *tat*, *rev*, *vif*, *nef*, *vpr* e *vpu*, cujos produtos regulam a replicação viral e a evasão imune ao hospedeiro de várias formas. As funções desses genes estão resumidas na Figura 21.4 e serão discutidas mais adiante.

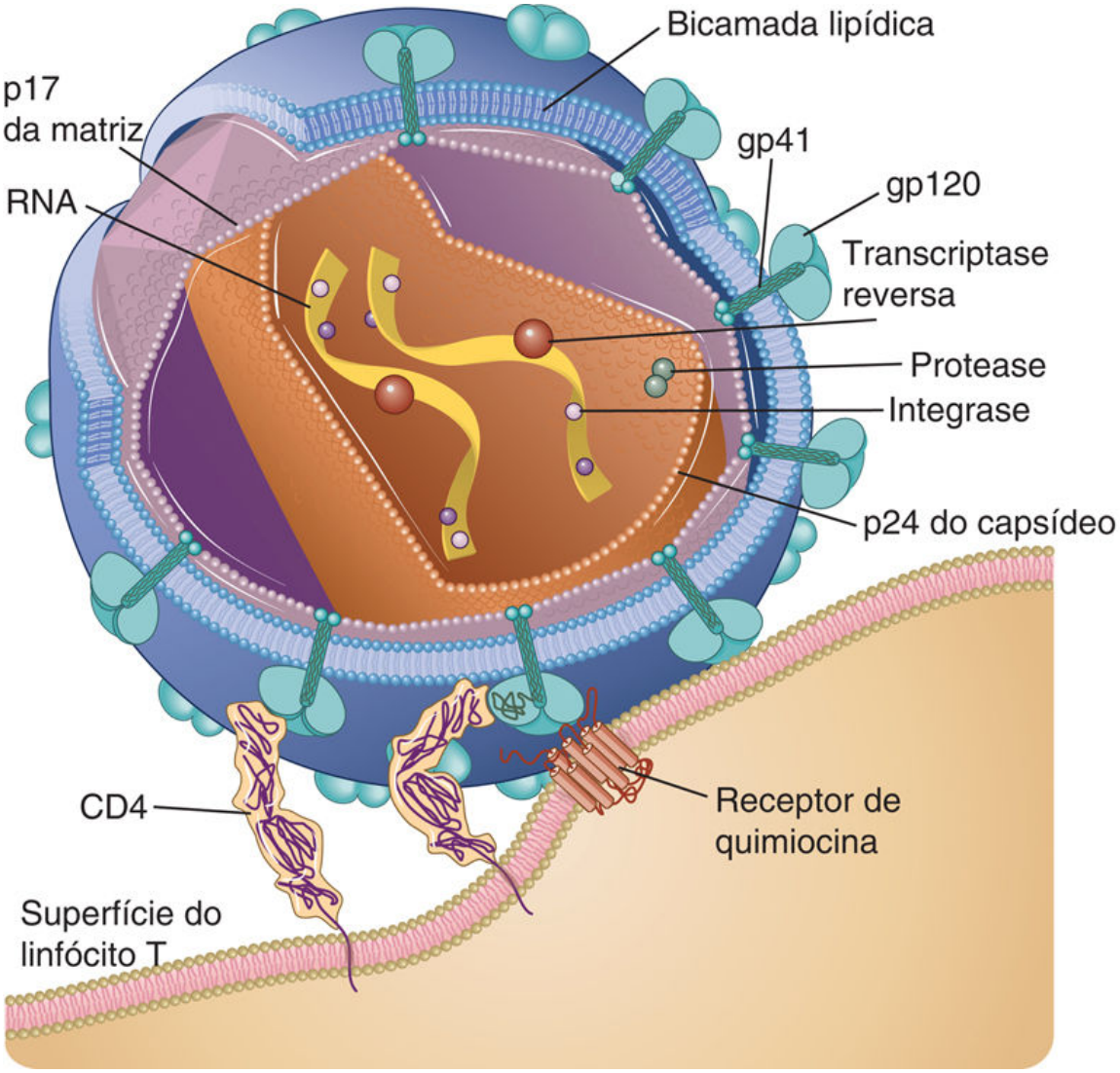
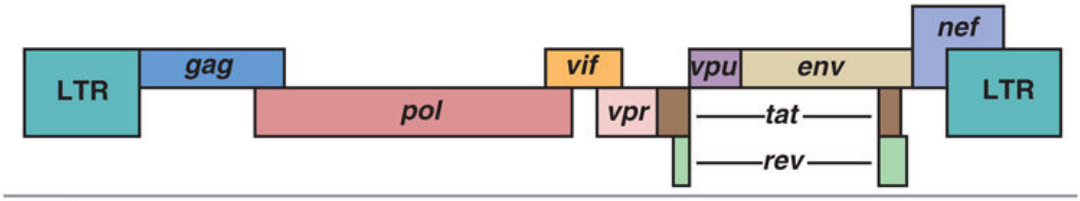


FIGURA 21.3 Estrutura do HIV-1.
Um vírion do HIV-1 próximo à superfície de uma célula T é mostrado. O HIV-1 consiste de duas fitas de RNA idênticas (o genoma viral) e enzimas associadas, incluindo a transcriptase reversa, integrase e protease, empacotadas em um núcleo em forma de cone composto pela proteína p24 do capsídeo, envolvido por uma proteína p17 de matriz, e toda estrutura é circundada por um envelope de membrana fosfolipídica derivado da célula do hospedeiro. As proteínas de membrana codificadas pelo vírus (gp41 e gp120) estão ligadas ao envelope. O CD4 e receptores de quimiocinas na superfície da célula do hospedeiro atuam como receptores do HIV-1 (Copyright © 2000 Terese Winslow.)



LTR LTR Transcrição do genoma viral; integração do DNA viral ao genoma da célula hospedeira; sítio de ligação para fatores de transcrição do hospedeiro;

gag ***gag*** Proteínas centrais do nucleocapsídeo e de matriz

pol ***pol*** Transcriptase reversa, protease, integrase e ribonuclease

env ***env*** Proteínas do envelope viral (gp120 e gp41)

vif ***vif*** Supera os efeitos inibidores da enzima de células hospedeiras (APOBEC3G), promove replicação viral

vpr ***vpr*** Aumenta a replicação viral, promove especialmente a infecção dos macrófagos pelo HIV, bloqueia a progressão do ciclo celular

tat ***tat*** Necessária para o alongamento de transcritos virais

rev ***rev*** Promove a exportação nuclear de RNAs virais parcialmente processados

vpu ***vpu*** Regula negativamente a expressão de CD4 na célula hospedeira; aumenta a liberação de vírus a partir das células; neutraliza o fator de restrição do hospedeiro teterina

nef ***nef*** Regula negativamente a expressão de CD4 e do MHC de classe I na célula hospedeira; modula a sinalização intracelular para facilitar a replicação viral

FIGURA 21.4 Genoma do HIV.
Os genes ao longo do genoma linear estão representados por blocos de diferentes cores. Alguns genes usam uma parte das mesmas sequências de outros genes, como mostrado pelos blocos sobrepostos, mas são lidos de forma diferente pela RNA polimerase da célula hospedeira. As sequências codificadoras dos genes *tat* e ver estão separadas no genoma e requerem processamento do RNA para produzir um RNAm funcional. *LTR*, repetição terminal longa; *gag*, antígeno grupo-específico; *pol*, polimerase; *env*, envelope; *vif*, fator de infectividade viral; *vpr*, proteína viral R; *tat*, ativador transcricional; *rev*, regulador da expressão gênica viral; *vpu*, proteína viral u; *nef*, efetor negativo. (Modificado de Greene W: AIDS and the immune system. Copyright © 1993 by Scientific American, Inc.)

Ciclo de Vida Viral

A infecção das células pelo HIV inicia-se quando a glicoproteína gp120 do envelope viral liga-se a duas proteínas da célula hospedeira, o CD4 e um correceptor que é geralmente um receptor de quimiocinas (Fig. 21.5). As partículas virais que iniciam a infecção estão geralmente presentes no sangue, sêmen ou outros fluidos corporais de um indivíduo e são introduzidas em outro indivíduo pelo contato sexual, picada por agulha

ou passagem transplacentária. O complexo de glicoproteínas do envelope viral, chamado Env, é composto por uma subunidade gp41 transmembrana e uma subunidade gp120 externa, associadas de forma não covalente. Essas subunidades são produzidas por clivagem proteolítica de uma gp160 precursora. O complexo Env é expresso como uma estrutura trimérica de três pares de gp120/gp41. Esse complexo medeia um processo de múltiplas etapas de fusão do envelope do vírion à membrana da célula-alvo (Fig. 21.6). O primeiro passo deste processo é a ligação das subunidades de gp120 a moléculas CD4, o que induz uma alteração conformacional que promove a ligação secundária de gp120 a um receptor de quimiocinas, que atua como um correceptor para o vírus. A ligação do HIV ao correceptor induz uma mudança conformacional em gp41 que expõe uma região hidrofóbica, chamada de peptídeo de fusão, que se insere na membrana celular, permitindo que a membrana viral se funda à membrana da célula-alvo. Após o vírus completar o seu ciclo de vida na célula infectada (descrito mais adiante), as partículas virais livres são liberadas da célula infectada e se ligam a uma célula não infectada, propagando assim a infecção. Além disso, a gp120 e a gp41, expressas na membrana plasmática das células infectadas antes de o vírus ser liberado, podem mediar a fusão célula-célula com uma célula não infectada que expressa CD4 e correceptores, de maneira que os genomas do HIV podem então ser repassados diretamente entre as células fusionadas.

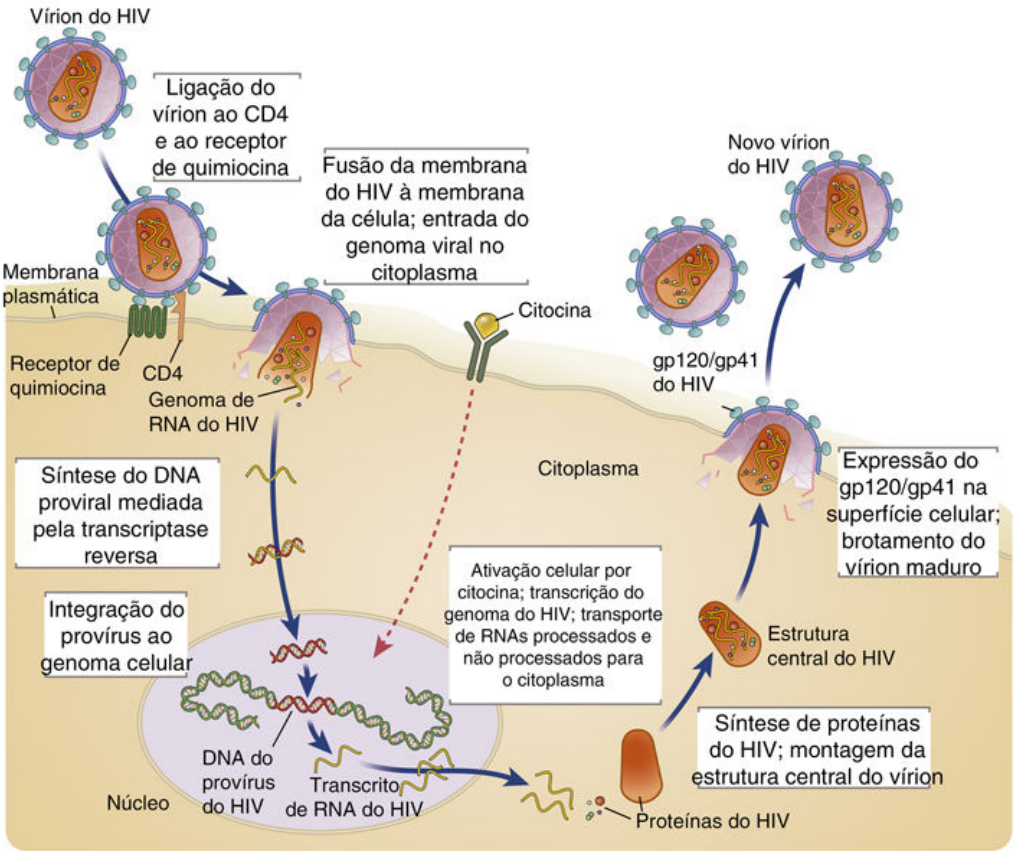


FIGURA 21.5 Ciclo de vida do HIV.
As etapas sequenciais do ciclo de vida do HIV são mostradas, desde a infecção inicial de uma célula do hospedeiro até a replicação viral e liberação de um novo vírion. Para fins de clareza, a produção e a liberação de apenas um novo vírion são mostradas. Na verdade, uma célula infectada produz muitos vírions, e cada um deles é capaz de infectar células, desse modo ampliando o ciclo infeccioso. A transcrição proviral é ativada por citocinas ou antígeno (não mostrado).

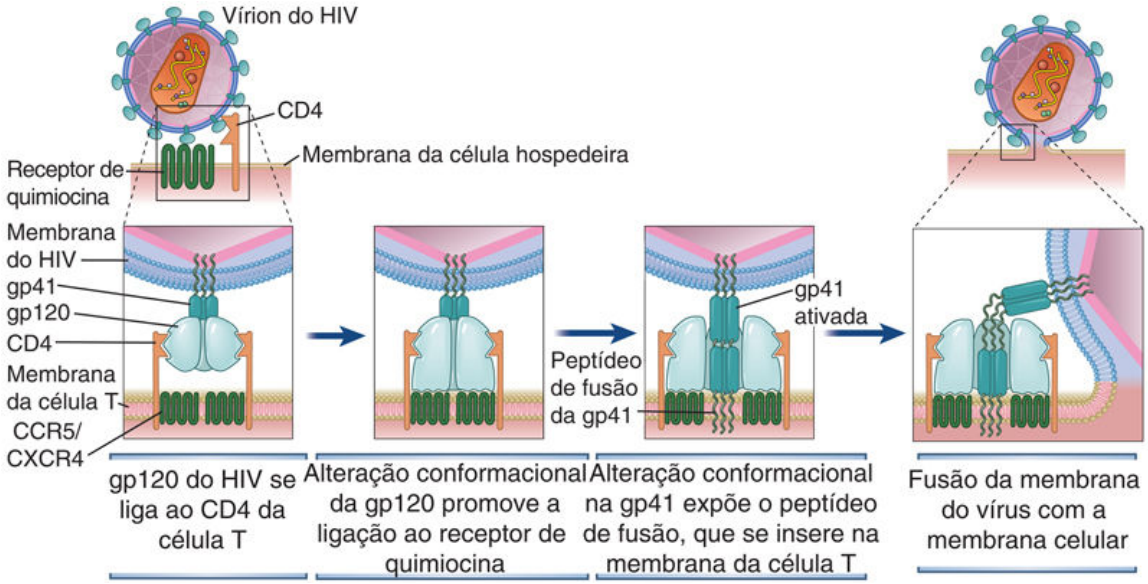


FIGURA 21.6 Mecanismo de entrada do HIV em uma célula. No modelo representado, alterações conformacionais sequenciais na gp120 e gp41 são induzidas pela ligação ao CD4. Essas alterações promovem a ligação do vírus ao correceptor (um receptor de quimiocina) e a fusão do HIV-1 com as membranas da célula hospedeira. O peptídeo de fusão da gp41 ativada contém resíduos de aminoácidos hidrofóbicos que medeiam a inserção na membrana plasmática da célula do hospedeiro.

Os receptores de quimiocinas mais importantes que atuam como correceptores para o HIV são o CXCR4 e o CCR5. Já foi demonstrado que mais de sete receptores de quimiocinas servem como correceptores para a entrada do HIV nas células e várias outras proteínas que pertencem à família do receptor acoplado a proteína G que atravessa a membrana sete vezes, como o receptor do leucotrieno B_4, também podem mediar a infecção das células pelo HIV. Diferentes isolados de HIV apresentam tropismos distintos para populações celulares variadas, que estão relacionados à expressão de diferentes receptores de quimiocina nestas células.

Todas as cepas de HIV podem infectar e se replicar em células T $CD4^+$ humanas recém-isoladas ativadas *in vitro*. Em contraste, algumas cepas infectarão culturas primárias de macrófagos humanos, mas não linhagens contínuas de células T (sendo chamados vírus macrófago-trópico ou M-trópico), enquanto outras cepas infectarão linhagens de células T mas não de macrófagos (vírus T-trópico), e algumas infectarão linhagens de células T e macrófagos (vírus duplo-trópico). Isolados de vírus M-trópico expressam uma gp120 que se liga ao CCR5 expresso nos macrófagos (e em

algumas células T de memória), enquanto os vírus T-trópicos ligam-se ao CXCR4 expresso nas linhagens de células T. Variantes do HIV são descritas como X4 quando se ligam ao CXCR4, R5 quando se ligam ao CCR5, ou R5X4 quando são capazes de se ligar a ambos os receptores de quimiocinas. Em muitos indivíduos infectados pelo HIV, há uma alteração na produção de vírus que utiliza o CCR5, predominantemente M-trópico, no início da doença, para o vírus que se liga a CXCR4 e é T-trópico, tardiamente na doença. As cepas T-trópicas tendem a ser mais virulentas, presumivelmente porque elas infectam e destroem as células T mais do que as cepas M-trópicas. A importância do CCR5 na infecção pelo HIV *in vivo* é suportada pela descoberta de que os indivíduos que não expressam esse receptor na superfície celular devido à deleção herdada em homozigose do gene *CCR5* são resistentes à infecção pelo HIV.

Uma vez que um vírion do HIV entra em uma célula, as enzimas no interior do complexo de nucleoproteína tornam-se ativas e iniciam o ciclo replicativo viral (Fig. 21.5). O centro da nucleoproteína viral rompe-se, o genoma de RNA do HIV sofre transcrição reversa em DNA de dupla fita por ação da transcriptase reversa viral e o DNA viral entra no núcleo. A integrase viral também entra no núcleo e catalisa a integração do DNA viral ao genoma da célula hospedeira. O DNA integrado do HIV é chamado **provírus**. Os provírus podem permanecer transcricionalmente inativos durante meses ou anos, com pouca ou nenhuma produção de novas proteínas virais ou vírions, e desse modo a infecção de uma célula individual pelo HIV pode permanecer latente.

A transcrição dos genes do provírus de DNA integrado é regulada pela LTR* upstream *aos genes estruturais virais, sendo que as citocinas e outros estímulos que ativam as células T e os macrófagos amplificam a transcrição gênica viral. As LTRs contêm sequências-sinal de poliadenilação, a sequência promotora "TATA Box" e os sítios de ligação para dois fatores de transcrição da célula hospedeira, NF-κB e SP1. A iniciação da transcrição gênica do HIV nas células T está associada à ativação das células T por antígenos ou citocinas. Por exemplo, os ativadores policlonais de células T como a fito-hemaglutinina, e citocinas como a IL-2, o fator de necrose tumoral (TNF, do inglês, *tumor necrosis factor*) e a linfotoxina, estimulam a expressão gênica do HIV nas células T infectadas; enquanto a IL-1, IL-3, IL -6, TNF, linfotoxina, IFN-γ e o fator estimulador de colônias de granulócitos-macrófagos (GM-CSF, do inglês, *granulocyte-macrophage colony-stimulating factor*) estimulam a expressão gênica do HIV e a replicação viral em monócitos e macrófagos infectados. A estimulação da transcrição gênica do HIV por TCR e citocinas

provavelmente envolve a ativação do NF-κB e sua ligação às sequências do LTR. Esse fenômeno é significativo para a patogênese da AIDS, porque a resposta normal de uma célula T infectada de forma latente a um microrganismo pode ser a maneira pela qual a latência do HIV é encerrada e a produção de vírus iniciada. Assim, as múltiplas infecções que os pacientes com AIDS adquirem, estimulam a produção do HIV e a infecção de células adicionais.

A proteína Tat é necessária para a expressão gênica do HIV e atua amplificando a produção de transcritos completos do RNAm viral. Mesmo na presença de sinais ótimos para iniciar a transcrição, pouca ou nenhuma molécula de RNAm do HIV é realmente sintetizada sem a ação da Tat, porque a transcrição de genes do HIV pela RNA polimerase de mamíferos é ineficiente e o complexo polimerase geralmente cessa antes do RNAm estar concluído. A Tat permite que a RNA polimerase dependente de DNA permaneça ligada à molécula de DNA viral por tempo suficiente para a transcrição para ser completada e, assim, produzir um RNAm viral funcional.

A síntese de partículas virais infecciosas maduras começa assim que os transcritos de RNA viral completos são sintetizados e os genes virais expressos como proteínas. Os RNAm que codificam as várias proteínas do HIV são derivados de um único transcrito completo do genoma por eventos de *splicing* diferencial. A expressão gênica do HIV pode ser dividida em uma fase inicial, durante a qual os genes reguladores são expressos, e uma fase tardia, durante a qual são expressos os genes estruturais e os genomas virais completos são empacotados. As proteínas Rev, Tat e Nef são produtos gênicos iniciais codificados por RNAm que sofreram *splicing* e que são exportados a partir do núcleo e traduzidos em proteínas no citoplasma logo após a infecção de uma célula. Os genes tardios incluem *env*, *gag* e *pol*, que codificam os componentes estruturais dos vírus e são traduzidos a partir de um RNA processado ou mesmo não processado. A proteína Rev inicia a transição da expressão dos genes iniciais para os tardios, promovendo a exportação desses RNAs gênicos tardios incompletamente processados para fora do núcleo. O produto do gene *pol* é uma proteína precursora sequencialmente clivada para formar as enzimas transcriptase reversa, protease, ribonuclease e integrase. Como mencionado anteriormente, as proteínas transcriptase reversa e integrase são necessárias para a produção de uma cópia de DNA do genoma a partir do RNA viral e por sua integração como um provírus no genoma do hospedeiro. O gene *gag* codifica uma proteína de 55 kDa que é clivada proteoliticamente nos polipeptídeos p24, p17 e p15 pela ação da protease

viral codificada pelo gene *pol*. Esses polipeptídeos são as proteínas centrais necessárias para a montagem das partículas virais infecciosas. O produto primário do gene *env* é uma glicoproteína de 160 kDa (gp160) que é clivada por proteases celulares no retículo endoplasmático nas proteínas gp120 e gp41 necessárias para a ligação do HIV às células, como discutido anteriormente. A terapia antirretroviral atual para a doença causada pelo HIV inclui inibidores das enzimas transcriptase reversa, protease e integrase.

Após a transcrição de vários genes virais, as proteínas virais são sintetizadas no citoplasma. A montagem das partículas virais infecciosas inicia-se então pelo empacotamento dos transcritos completos de RNA do genoma proviral dentro de um complexo de nucleoproteínas que inclui as proteínas centrais codificadas por *gag* e as enzimas codificadas por *pol* necessárias para o próximo ciclo de integração. Esse complexo de nucleoproteínas então brota através da membrana plasmática, capturando Env e glicoproteínas do hospedeiro como parte de seu envelope. A taxa de produção viral pode atingir níveis suficientemente altos para causar morte celular, como discutido mais adiante.

Patogênese da Infecção pelo HIV e AIDS

A doença causada pelo HIV começa com uma infecção aguda, que é apenas parcialmente controlada pela resposta imune do hospedeiro, e evolui para uma infecção crônica progressiva de tecidos linfoides periféricos (Fig. 21.7). O vírus tipicamente entra no organismo através de epitélios da mucosa. Os eventos subsequentes à infecção podem ser divididos em várias fases.

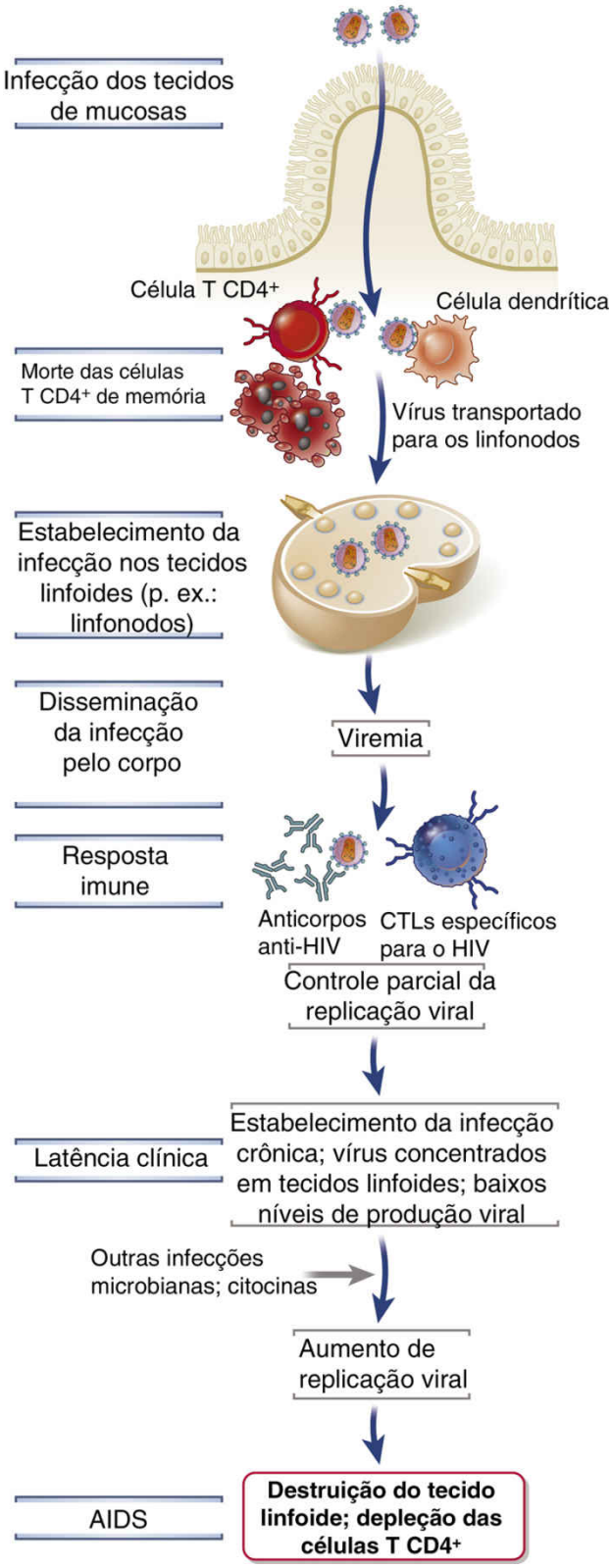


FIGURA 21.7 Progressão da infecção causada pelo HIV. A progressão da infecção causada pelo HIV se relaciona com a disseminação do vírus a partir do sítio inicial de infecção para os

tecidos linfoides de todo o corpo. A resposta imune do hospedeiro controla temporariamente a infecção aguda, mas não evita o estabelecimento da infecção crônica das células do tecido linfoide. O estímulo de citocinas induzido por outros microrganismos atuam para aumentar a produção do HIV e a progressão para a AIDS.

A infecção aguda (inicial) caracteriza-se pela infecção de células T CD4$^+$ ativadas em tecidos linfoides de mucosa e pela morte de muitas células infectadas e de células T CD4$^+$ bystander abortivamente infectadas. Embora um grande número de células T CD4$^+$ ativadas e de memória sejam residentes dos sítios de mucosa e possam ser infectadas pelo HIV, a morte ocorre não somente em células infectadas, mas também em células T CD4$^+$ *bystander* (de passagem), como será descrito adiante. De fato, cerca de 2 semanas após a infecção, uma grande fração de células T CD4$^+$ pode estar destruída.

A transição da fase aguda para a fase crônica da infecção é acompanhada pela disseminação do vírus, viremia e o desenvolvimento de respostas imunes adaptativas pelo hospedeiro. As células dendríticas do epitélio no local de entrada viral capturam o vírus e então migram para os linfonodos. As células dendríticas expressam uma proteína com um domínio de lectina ligante de manose, chamada DC-SIGN, que pode ser particularmente importante na ligação do envelope do HIV e no transporte do vírus. Uma vez nos tecidos linfoides, as células dendríticas podem transmitir o HIV aos linfócitos T CD4$^+$ por contato direto célula-célula. Alguns dias após a primeira exposição ao HIV, a replicação viral pode ser detectada nos linfonodos. Essa replicação provoca a viremia, durante a qual um grande número de partículas do HIV estão presentes no sangue do paciente, acompanhada por uma síndrome aguda do HIV, que inclui uma variedade de sinais e sintomas inespecíficos típicos de muitas infecções virais (descritos mais adiante). A viremia permite que o vírus se dissemine por todo o corpo e infecte as células T auxiliares, macrófagos e células dendríticas nos tecidos linfoides periféricos. À medida que a infecção pelo HIV se espalha, o sistema imune adaptativo monta respostas imunes humoral e mediada por células direcionadas aos antígenos virais, descritas adiante. Essas respostas imunes controlam parcialmente a infecção e a produção viral, e esse controle reflete-se em uma queda da viremia para níveis baixos, mas detectáveis, por aproximadamente 12 semanas após a exposição primária.

Na fase seguinte, a fase crônica da doença, os linfonodos e o baço constituem locais de replicação contínua do HIV e de destruição celular

(Fig. 21.7). Durante essa fase da doença, o sistema imune permanece competente para lidar com a maioria das infecções por microrganismos oportunistas, e pouca ou nenhuma manifestação clínica da infecção pelo HIV está presente. Portanto, essa fase da infecção pelo HIV é chamada período de latência clínica. Embora a maioria das células T do sangue periférico não abrigue o vírus, a destruição das células T $CD4^+$ no interior de tecidos linfoides progride de forma constante durante o período de latência e o número de células T $CD4^+$ sanguíneas circulantes declina proporcionalmente (Fig. 21.8). Mais de 90% das cerca de 10^{12} células T do organismo são normalmente encontradas em tecidos linfoides periféricos e das mucosas, e estima-se que o HIV destrua até 1-2 $\times$ 10^9 células T $CD4^+$ por dia. No início do curso da doença, o indivíduo pode continuar produzindo novas células T $CD4^+$ e, portanto, essas células podem ser substituídas quase tão rapidamente quanto são destruídas. Nesta fase, até 10% das células T $CD4^+$ dos órgãos linfoides podem estar infectadas, mas o número de células T $CD4^+$ circulantes infectadas a qualquer momento pode ser inferior a 0,1% do total de células T $CD4^+$ em um indivíduo. Eventualmente, ao longo de um período de anos, o ciclo contínuo de infecção pelo vírus, morte de células T e nova infecção leva a uma perda inexorável das células T $CD4^+$ dos tecidos linfoides e da circulação.

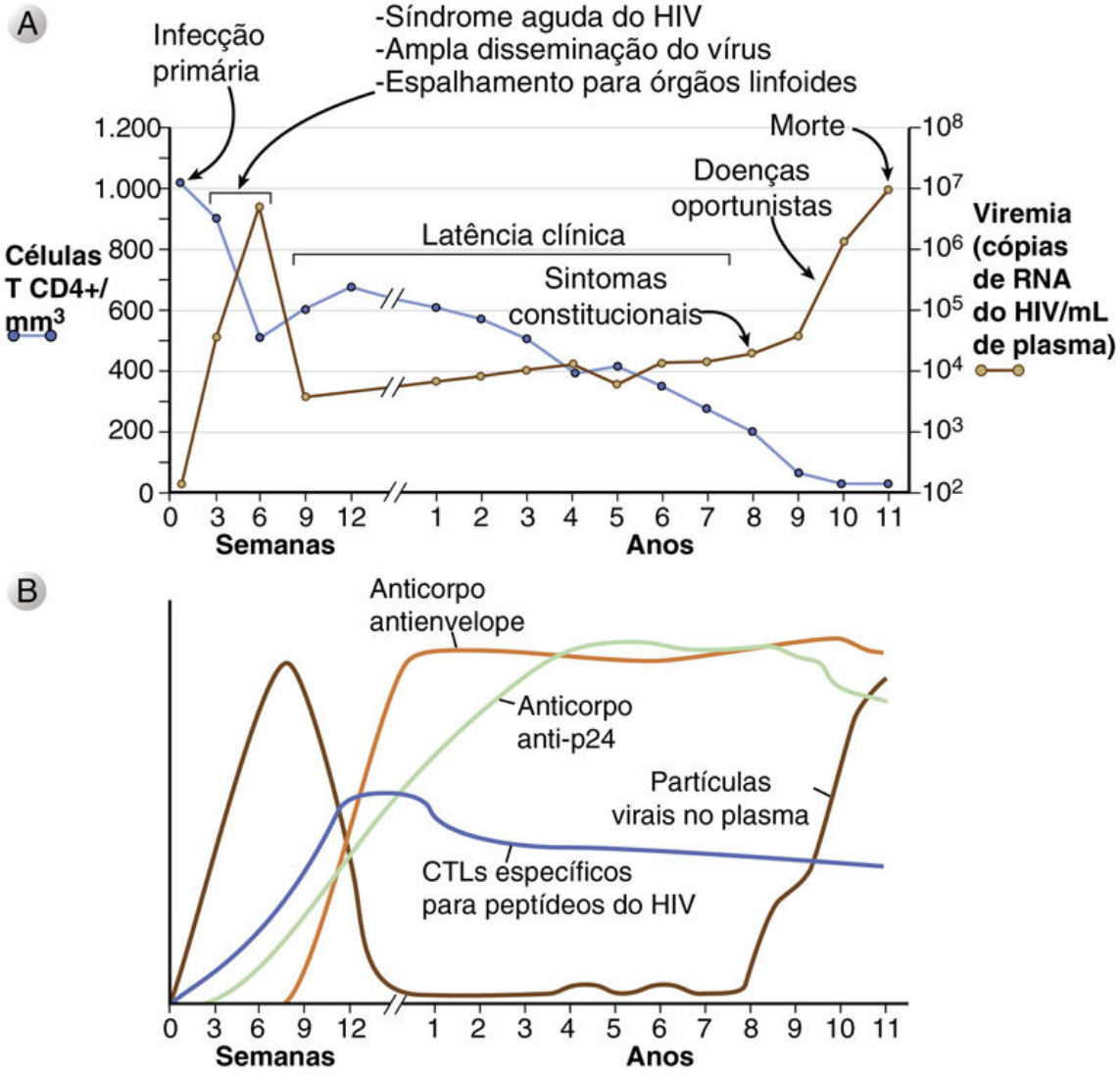


FIGURA 21.8 Curso clínico da doença causada pelo HIV.

A, Viremia plasmática, contagem de células T $CD4^+$ no sangue e estágios clínicos da doença. Aproximadamente 12 semanas após a infecção, a concentração de vírus no sangue (viremia plasmática) é reduzida para níveis muito baixos (detectável apenas por ensaios de reação em cadeia da polimerase sensíveis para a transcriptase reversa) e assim permanece por muitos anos. Contudo, a contagem de células T $CD4^+$ declina progressivamente durante esse período de latência clínica porque há replicação viral ativa e infecção de células T nos linfonodos. Quando a contagem de células T $CD4^+$ cai abaixo de um nível crítico (aproximadamente 200/mm^3), o risco de infecção e outras características clínicas da AIDS é alto. **B**, Resposta imune a infecção pelo HIV. A resposta de CTLs ao HIV é detectável entre 2 e 3 semanas após a infecção inicial e atinge seu pico entre 9 e 12 semanas. Uma expansão expressiva de células T

CD8$^+$ específicas para o vírus ocorre durante este período e até 10% dos CTLs de um paciente podem ser específicos para o HIV em 12 semanas. O pico da resposta imune humoral ao HIV ocorre em cerca de 12 semanas. (**A** de Pantaleo G, Graziosi C, Fauci AS: New concepts in the immunopathogenesis of human immunodeficiency virus infection, N Engl J Med 328:327-335, 1993. Copyright 1993 Massachusetts Medical Society.)

Mecanismos da Imunodeficiência Causada pelo HIV

A infecção pelo HIV resulta em comprometimento funcional dos sistemas imunes adaptativo e inato. Os defeitos mais proeminentes ocorrem na imunidade mediada por células, que resulta da destruição de células T CD4$^+$. As células T CD4$^+$ infectadas e possivelmente as não infectadas podem ser perdidas. Há três mecanismos principais que contribuem com a perda das células T CD4$^+$ infectadas – efeitos citopáticos da infecção viral, destruição pelas células T citotóxicas antígeno-específicas, além de ativação do inflamassomo e eliminação de células infectadas por piroptose. Esses mecanismos estão descritos a seguir. Além disso, algumas células T *bystander* não infectadas podem também ser perdidas em indivíduos infectados pelo HIV por mecanismos pobremente compreendidos.

Uma causa importante de perda das células T CD4$^+$ em indivíduos infectados pelo HIV é o efeito direito da infecção viral nessas células. A morte das células T CD4$^+$ está associada à produção de vírus nas células infectadas e pode contribuir com o declínio do número destas células, especialmente na fase inicial (aguda) da infecção. Vários efeitos tóxicos diretos do HIV nas células T CD4$^+$ infectadas foram descritos.

- O processo de produção viral, com a expressão da gp41 na membrana plasmática e o brotamento de partículas virais, pode levar a um aumento de permeabilidade da membrana plasmática e influxo de quantidades letais de cálcio (o que induz apoptose) ou à lise osmótica da célula (causada pelo influxo de água).
- A produção viral pode interferir na síntese proteica celular e, desse modo, levar à morte da célula.
- As membranas plasmáticas das células T infectadas pelo HIV e das células T CD4$^+$ não infectadas se fundem em decorrência de interações gp120-CD4, e há formação de células gigantes multinucleadas ou sincícios. O processo de formação de sincícios induzido pelo HIV pode ser letal para as células T infectadas pelo

vírus, bem como para as células T $CD4^+$ não infectadas que se fundem às células infectadas. No entanto, esse fenômeno foi amplamente observado *in vitro*, e os sincícios raramente são vistos nos tecidos de pacientes com AIDS.

Outro mecanismo de morte celular é a deleção de células T $CD4^+$ infectadas por células T $CD8^+$ citotóxicas. Antes do início da depleção extensiva de células T $CD4^+$, algumas respostas de células T $CD8^+$ contra o vírus são induzidas e podem contribuir para a depleção de células T $CD4^+$ infectadas.

A infecção abortiva de células T $CD4^+$ pode levar à ativação do inflamossomo e piroptose. Uma causa importante de perda das células T $CD4^+$ é a morte de células *bystander* não infectadas. Células T $CD4^+$ não ativadas são permissivas à entrada viral, mas não à infecção produtiva. Nessas células, a infecção pode se interromper, parcialmente porque os desoxirribonucleotídeos trifosfatados necessários para a síntese da cópia de DNA a partir do RNA viral são depletados por SAMHD1 nessas células em repouso e a transcrição reversa é prematuramente parada. Nas células *bystander* abortivamente infectadas, o sensor de DNA IFI16 pode detectar produtos truncados da transcrição reversa e desencadear a ativação do inflamassomo e piroptose.

Mecanismos adicionais, além da morte de células T $CD4^+$ infectadas induzida pelo vírus, foram propostos para a depleção e comprometimento funcional dessas células em indivíduos infectados pelo HIV. Um dos mecanismos está relacionado à ativação crônica de células não infectadas pelas infecções que são comuns em pacientes infectados pelo HIV e também pelas citocinas produzidas em resposta a essas infecções. A ativação crônica das células T pode predispor essas células à apoptose; a via molecular envolvida neste tipo de morte celular induzida por ativação ainda não está definida. A morte apoptótica de linfócitos ativados pode ser responsável pela observação de que a perda das células T excede em muito o número de células infectadas pelo HIV. Como mencionado anteriormente, os CTLs específicos para o HIV estão presentes em muitos pacientes com AIDS, e essas células podem matar as células T $CD4^+$ infectadas. Além disso, anticorpos contra as proteínas de envelope do HIV podem se ligar às células T $CD4^+$ infectadas pelo vírus e marcá-las para a CCDA. A ligação da gp120 ao CD4 intracelular recém-sintetizado pode interferir com o processamento normal de proteínas no retículo endoplasmático e bloquear a expressão do CD4 na superfície celular,

tornando as células incapazes de responder à estimulação antigênica. A importância relativa desses mecanismos indiretos de depleção das células T $CD4^+$ em pacientes infectados pelo HIV é incerto e controverso.

Defeitos funcionais do sistema imune em indivíduos infectados pelo HIV agravam a imunodeficiência causada pela depleção das células T $CD4^+$. Esses defeitos funcionais incluem uma redução das respostas de células T aos antígenos e fracas respostas imunes humorais, mesmo que os níveis totais de Ig sérica estejam elevados. Os defeitos podem ser resultantes dos efeitos diretos da infecção pelo HIV nas células T $CD4^+$, incluindo os efeitos da gp120 solúvel liberada pelas células infectadas se ligando às células não infectadas. Por exemplo, o CD4 que se ligou à gp120 pode não estar disponível para interagir com as moléculas do MHC de classe II nas APCs, e, dessa forma, as respostas das células T aos antígenos seriam inibidas. Alternativamente, a ligação da gp120 ao CD4 pode fornecer sinais que regulam negativamente a função das células T auxiliares. As células T infectadas pelo HIV são incapazes de formar sinapses fortes com as APCs e isso também pode interferir na ativação das células T. Alguns estudos demonstraram que os pacientes infectados pelo HIV apresentam número aumentado de células T reguladoras $CD4^+$ $CD25^+$, mas ainda não está claro se esse é um achado consistente ou se essas células na verdade contribuem para os defeitos da imunidade.

Os macrófagos, as células dendríticas e as células dendríticas foliculares (FDCs, do inglês,* follicular dendritic cells*) podem ser infectadas ou lesadas pelo HIV, e as suas anormalidades também contribuem para a progressão da imunodeficiência.

- Os macrófagos expressam níveis muito mais baixos de CD4 do que os linfócitos T auxiliares, mas eles expressam os correceptores CCR5 e são suscetíveis à infecção pelo HIV. Entretanto, os macrófagos são relativamente resistentes aos efeitos citopáticos do HIV. Os macrófagos também podem ser infectados por uma rota independente da gp120/gp41, como a fagocitose de outras células infectadas ou a endocitose de vírions do HIV recobertos por anticorpos mediada pelo receptor Fc. Como os macrófagos podem ser infectados, mas não são normalmente destruídos pelo HIV, eles podem se tornar um reservatório viral. De fato, a quantidade de HIV associada aos macrófagos excede a quantidade de vírus associados às células T na maioria dos tecidos de pacientes com AIDS, incluindo o cérebro e os pulmões. Os macrófagos infectados

pelo HIV podem apresentar deficiências nas funções de apresentação de antígenos e secreção de citocinas.

- As células dendríticas também podem ser infectadas pelo HIV. Como os macrófagos, as células dendríticas não são diretamente lesadas na infecção pelo HIV. Contudo, essas células fazem contato íntimo com as células T *naive* no decorrer da apresentação de antígenos. Sugere-se que as células dendríticas infectam as células T *naive* durante esses encontros que podem ser uma via de propagação da infecção.
- As FDCs dos centros germinativos dos linfonodos e do baço capturam grandes quantidades de HIV em suas superfícies, em parte pela ligação aos vírus recobertos por anticorpos mediada por receptores Fc. Embora não sejam eficientemente infectadas, as FDCs contribuem para a patogênese da imunodeficiência associada ao HIV de duas maneiras pelo menos. Primeiro, a superfície das FDCs constitui um reservatório para o HIV que pode infectar os macrófagos e as células T $CD4^+$ nos linfonodos. Segundo, as funções normais das FDCs nas respostas imunes estão prejudicadas e elas podem eventualmente ser destruídas pelo vírus. Embora os mecanismos de morte das FDCs induzidos pelo HIV não sejam compreendidos, o resultado líquido da perda da rede de FDCs nos linfonodos e no baço é uma profunda dissolução da arquitetura do sistema linfoide periférico.

Reservatórios do HIV e Renovação Viral

Os vírus detectados no sangue dos pacientes são produzidos principalmente pelas células T $CD4^+$ infectadas de vida curta e, em menores quantidades, por outras células infectadas. Três fases de declínio da viremia plasmática têm sido observadas nos pacientes tratados com fármacos antirretrovirais ou previstos por modelagem matemática, e essas curvas de declínio foram usadas para deduzir a distribuição do HIV em diferentes reservatórios celulares. Acredita-se que mais de 90% dos vírus plasmáticos sejam produzidos por células de vida curta (meia-vida de ~1 dia), que provavelmente são células T $CD4^+$ ativadas, os principais reservatórios e fontes de vírus nos pacientes infectados. Aproximadamente 5% do vírus no plasma é produzido por macrófagos, que apresentam uma renovação mais lenta (meia-vida de cerca de 2 semanas). Admite-se a hipótese de que uma pequena fração do vírus, talvez algo como 1%, esteja presente em células T de memória infectadas de forma latente. Devido ao

longo ciclo de vida das células de memória, pode levar décadas para que esse reservatório viral seja eliminado, mesmo que todos os novos ciclos de infecção sejam bloqueados.

Características Clínicas da Doença Causada pelo HIV

Há uma vasta quantidade de informação acumulada sobre a epidemiologia e a progressão clínica da infecção pelo HIV. À medida que a terapia com fármacos antirretrovirais melhora, muitas das manifestações clínicas estão mudando. Na próxima seção, descreveremos as características clássicas da infecção pelo HIV e discutiremos as mudanças desses quadros quando relevantes.

Transmissão do HIV e Epidemiologia da AIDS

O HIV é transmitido de uma pessoa para outra por meio de três rotas principais:

- ***O contato sexual é o modo mais frequente de transmissão,*** tanto entre casais heterossexuais (o modo mais frequente de transmissão na África e na Ásia) como entre parceiros homossexuais do sexo masculino. Na África subsariana, onde a taxa de infecção é a mais alta do mundo (estima-se que seja de aproximadamente 10 mil novos casos por dia), mais da metade das pessoas infectadas são mulheres.
- ***A transmissão materno-fetal*** do HIV é responsável pela maioria dos casos pediátricos de AIDS. Esse tipo de transmissão ocorre mais frequentemente *in utero* ou durante o parto, embora a transmissão através do leite materno também seja possível.
- ***A inoculação de um receptor com sangue ou hemoderivados infectados*** também é um modo frequente de transmissão do HIV. Agulhas compartilhadas por usuários de drogas intravenosas respondem pela maioria dos casos nesta forma de transmissão. O HIV pode permanecer infeccioso em uma agulha infectada usada por 6 semanas em climas temperados. Com o advento da triagem laboratorial de rotina, a transfusão de sangue ou hemoderivados no contexto clínico responde por uma pequena porção de infecções pelo HIV.

Progressão Clínica da Infecção pelo HIV

O curso da doença causada pelo HIV pode ser acompanhado por meio da avaliação da quantidade de vírus no plasma do paciente e pela contagem de células T $CD4^+$ no sangue (Fig. 21.8).

- A ***fase aguda*** da doença, também chamada de síndrome aguda do HIV, é o período de viremia caracterizada por sintomas inespecíficos de infecção. Desenvolve-se em 50 a 70% dos adultos infectados, normalmente entre 3 a 6 semanas após a infecção. Há um pico da concentração viral plasmática e uma redução discreta da contagem de células T $CD4^+$, embora o número de células T $CD4^+$ sanguíneas geralmente retorne ao normal. Em muitos pacientes, no entanto, a infecção é silenciosa e não há sintomatologia.
- A ***fase crônica de latência clínica*** pode durar muitos anos. Durante esse tempo, o vírus permanece contido no interior de tecidos linfoides e a perda de células T $CD4^+$ é corrigida por reconstituição a partir de progenitores. Os pacientes permanecem assintomáticos ou sofrem de infecções pouco graves. Dentro de 2 a 6 meses após a infecção, a concentração viral plasmática se estabiliza em um determinado nível, que difere entre os pacientes. Esse nível de concentração viral e o número de células T $CD4^+$ sanguíneas são preditores clinicamente úteis de progressão da doença. Conforme a doença progride, os pacientes tornam-se suscetíveis a outras infecções e as respostas imunes a estas infecções podem estimular a produção do HIV e acelerar a destruição dos tecidos linfoides. Como discutido anteriormente, a transcrição gênica do HIV pode ser aumentada por estímulos que ativam as células T, como antígenos e várias citocinas. Citocinas, como o TNF, produzidas durante a resposta imune inata contra as infecções microbianas, são particularmente eficazes na amplificação da produção do HIV. Assim, conforme tenta erradicar outros microrganismos, o sistema imune causa sua própria destruição pelo HIV, um exemplo trágico do que foi chamado "subversão partindo de dentro".
- ***A doença causada pelo HIV progride para a fase final, quase que invariavelmente fatal, chamada AIDS, quando a contagem de células T $CD4^+$ sanguíneas cai para menos de 200 células/mm^3.*** A viremia do HIV pode aumentar drasticamente à medida que a replicação viral acelera sem controle em outros reservatórios além das células T. Os pacientes com AIDS sofrem de combinações de infecções oportunistas, neoplasias, caquexia (síndrome de

emaciação por infecção pelo HIV), insuficiência renal (nefropatia pelo HIV) e degeneração do SNC (encefalopatia associada à AIDS) (Tabela 21.7). Como as células T $CD4^+$ auxiliares são essenciais para as respostas imunes mediada por células e humoral para vários microrganismos, a perda desses linfócitos é a principal razão pela qual os pacientes com AIDS se tornam suscetíveis a muitos tipos de infecções diferentes. Além disso, muitos dos tumores que surgem em pacientes com AIDS apresentam etiologia viral, e a sua prevalência no contexto da AIDS reflete uma incapacidade do paciente infectado pelo HIV de montar uma resposta imune eficiente contra os vírus oncogênicos. A caquexia é frequentemente observada em pacientes com doenças inflamatórias crônicas e pode ser resultante dos efeitos das citocinas inflamatórias (como TNF) sobre o apetite e o metabolismo. A doença do SNC na AIDS pode ser decorrente da lesão neuronal causada pelo vírus ou pela liberação de proteínas virais, como gp120 e Tat, bem como pelos efeitos das citocinas produzidas pelas células microgliais infectadas. Muitas dessas consequências devastadoras da infecção pelo HIV, incluindo infecções oportunistas e tumores, foram reduzidas significativamente pela terapia antirretroviral altamente ativa.

Tabela 21.7

Características Clínicas da Infecção pelo HIV

Fase da Doença	Característica Clínica
Doença aguda causada pelo HIV	Febre, dores de cabeça, dor de garganta com faringite, linfadenopatia generalizada, erupção cutânea
Período de latência clínica	Declínio da contagem de células T $CD4^+$ no sangue
AIDS	Infecções oportunistas: Protozoários (*Toxoplasma; Cryptosporidium*) Bactérias (*Mycobaterium avium, Nocardia, Salmonella*) Fungos (*Candida, Cryptococcus neoformans, Coccidioides immitis, Histoplasma capsulatum, Pneumocystis*) Viroses (cytomegalovirus, herpes simples, varicela-zóster) Tumores: Linfomas (incluindo linfomas de células B associados ao EBV) Sarcoma de Kaposi Carcinoma cervical Encefalopatia Síndrome de emaciação

AIDS, Síndrome da imunodeficiência adquirida; *EBV*, vírus Epstein-Barr; *HIV*, vírus da imunodeficiência humana.

Embora esse resumo do curso clínico seja verdadeiro para os casos mais graves, a taxa de progressão da doença é altamente variável, e alguns indivíduos são não progressores de longo prazo. Os correlatos imunológicos dessa progressão variável permanecem desconhecidos. Além disso, a recente terapia antirretroviral alterou o curso da doença e reduziu enormemente a incidência de infecções oportunistas graves (como *Pneumocystis*) e de tumores (como o sarcoma de Kaposi).

Respostas Imunes ao HIV

Imunidade Inata contra o HIV e Fatores de Restrição do Hospedeiro

Os fatores de restrição do hospedeiro inibem a infecção viral e muitas proteínas virais evoluíram para combater estes fatores de restrição. Os fatores de restrição do hospedeiro são melhor entendidos no contexto geral das respostas imunes inatas ao HIV. O HIV é detectado por diversos receptores de reconhecimento de padrão, incluindo TLRs e RIG-I. Dois sensores-chave reconhecem produtos da transcriptase reversa viral no início da infecção. São eles a proteína 16 induzível por interferon (IFI16, do

inglês, *interferon inducible protein 16*) e a GMP-AMP cíclico sintase (cGAS, do inglês, *cyclic GMP-AMP synthase*), ambas discutidas no Capítulo 4. A IFI16 pode se ligar ao DNAc e a sinais derivados do HIV via o adaptador STING, a proteína quinase TBK1 e os fatores de transcrição IRF3 e IRF7. Essa sinalização induz a expressão de fatores de restrição do hospedeiro como APOBEC3, TRIM5α, SAMHD1 e teterina, todas descritas a seguir.

A teterina é um fator do hospedeiro que impede a liberação dos vírions em certos tipos celulares. A teterina evita a pressão de certos vírus, inclusive do HIV, e sua inibição do processo de brotamento pode ser antagonizado por uma proteína do HIV chamada Vpu. As células hospedeiras incorporam certos fatores de restrição nas partículas virais, incluindo proteínas APOBEC3 (enzima catalítica polipeptídica do tipo 3 de edição do RNAm da apolipoproteína B, do inglês, *apolipoprotein B mRNA editing enzyme catalytic polypeptide like 3*). Essa proteína é uma citidina desaminase que interfere na replicação viral em células infectadas. A proteína Vif do HIV ajuda a direcionar as proteínas APOBEC3 para ubiquitinação e degradação proteossomal e assim promove a replicação viral. Nas células infectadas, outro fator de restrição do hospedeiro importante é TRIM5α, da família TRIM (do inglês, *tripartite motif*) de ubiquitina ligases E3. A TRIM5α interage com as proteínas de capsídeo do HIV causando o desnudamento prematuro do vírus e a degradação proteossomal do complexo da transcriptase reversa viral. A TRIM5α também pode bloquear a translocação nuclear dos complexos virais de pré-integração. A SAMHD1 (domínio SAM e domínio HD 1, do inglês, *SAM domain and HD domain 1*) é uma enzima do hospedeiro que hidrolisa e depleta desoxinucleosídeos trifosfatados intracelulares e, dessa maneira, previne a síntese de DNA viral por transcrição reversa. A cepa viral HIV-2 produz uma proteína chamada Vpx que antagoniza a atividade de depleção de SAMHD1.

Muitas outras respostas imunes inatas contra o HIV foram descritas. Essas respostas incluem a produção de peptídeos antimicrobianos (defensinas) e a ativação de células NK, células dendríticas (particularmente células dendríticas plasmacitoides produtoras de interferon do tipo I) e o sistema complemento. O papel dessas respostas no combate a infecção não está estabelecida.

Respostas Imunes Adaptativas ao HIV

Respostas imunes humorais e mediadas por células específicas para o HIV se desenvolvem após a infecção, mas geralmente proporcionam proteção

limitada. A resposta inicial à infecção pelo HIV é, de fato, semelhante em muitos aspectos à resposta imune contra outros vírus e serve para remover a maior parte dos vírus presentes no sangue e nas células T circulantes. Não obstante, está claro que essas respostas imunes falham em erradicar todos os vírus, e a infecção eventualmente prevalece sobre o sistema imune na maioria dos indivíduos. Apesar das resposta imunes antivirais pouco eficientes, é importante caracterizá-la por três razões. Primeiro, as respostas imunes podem ser prejudiciais para o hospedeiro, por exemplo, estimulando a captura de vírus opsonizados por células não infectadas por endocitose mediada pelo receptor Fc ou por erradicação de células T $CD4^+$ que expressam antígenos virais pelos CTLs $CD8^+$. Segundo, os anticorpos contra o HIV são marcadores diagnósticos da infecção pelo HIV amplamente utilizados para fins de triagem. Terceiro, o desenho de vacinas eficazes para a imunização contra o HIV requer conhecimento sobre os tipos de respostas imunes mais propensas a serem protetoras (os correlatos de proteção).

A resposta imune adaptativa inicial contra a infecção pelo HIV é caracterizada pela expansão de células T $CD8^+$ específicas para peptídeos do HIV. Até 10% ou mais das células T $CD8^+$ circulantes podem ser específicas para o HIV durante a infecção aguda. Estes CTLs controlam a infecção na fase inicial (Fig. 21.8), mas no fim das contas revelam-se ineficazes em função do surgimento de mutantes virais de escape (variantes com antígenos mutados). As células T $CD4^+$ também respondem ao vírus, e essas células podem contribuir para o controle viral de inúmeras maneiras. Uma resposta efetiva das células T $CD4^+$ é necessária como uma fonte auxiliar para a geração de células T $CD8^+$ de memória, mas também foi demonstrado que as células T $CD4^+$ matam células infectadas pelo HIV, possivelmente usando o Fas ligante na interação com o Fas das células T $CD4^+$ infectadas.

A importância da resposta dos CTLs no controle do HIV é realçada pela evolução do vírus sob pressão imune, resultando em isolados virais que perderam seus epítopos originais reconhecidos pelos CTLs. A evolução do vírus também resulta na perda dos epítopos reconhecidos pelas células T $CD4^+$, indicando que tanto as células T $CD8^+$ como as $CD4^+$ contribuem para a defesa do hospedeiro contra o vírus.

As respostas por anticorpos a uma variedade de antígenos do HIV são detectáveis dentro de 6 a 9 semanas após a infecção. As moléculas mais imunogênicas do HIV que elicitam respostas por anticorpos parecem ser as glicoproteínas do envelope, e altos títulos de anticorpos anti-gp120 e

anti-gp41 estão presentes na maioria dos indivíduos infectados pelo HIV. Outros anticorpos anti-HIV encontrados frequentemente no soro dos pacientes são os anticorpos contra p24, transcriptase reversa e produtos dos genes *gag* e *pol* (Fig. 21.8). O efeito destes anticorpos no curso clínico da infecção por HIV é incerto. Os primeiros anticorpos geralmente não são neutralizantes e, portanto, são fracos inibidores da infectividade viral ou dos efeitos citopáticos. Os anticorpos neutralizantes contra gp120 desenvolvem-se de 2 a 3 meses após a infecção primária, mas mesmo esses anticorpos não conseguem lidar com um vírus que é capaz de alterar rapidamente os epítopos mais imunodominantes das glicoproteínas do seu envelope. O sequenciamento de genes de cadeia leve e pesada dos anticorpos das células B gp140-específicas de indivíduos que estão infectados com HIV-1 há alguns anos revelou a presença de anticorpos amplamente neutralizantes. De maneira intrigante, por razões desconhecidas, somente 10 a 15% dos indivíduos cronicamente infectados desenvolvem anticorpos amplamente neutralizantes. Esses anticorpos se ligam em um sítio da proteína viral que o vírus não pode se permitir de sofrer mutações, por exemplo, o sítio de ligação da gp140 ao CD4. Dessa forma, esses anticorpos são eficazes em eliminar o vírus. Uma característica marcante de todos esses anticorpos é que eles foram selecionados após extensa hipermutação somática, indicando uma resposta de anticorpos dependente de células T auxiliares. A conclusão é que o repertório inicial de células B *naive* específicas para o HIV consiste principalmente de células B cujos receptores antigênicos se ligam fracamente a certos epítopos antigênicos, como o local de ligação da gp140 ao CD4. Muitos ciclos de hipermutação somática e de seleção que ocorrem em uma infecção de longo prazo podem eventualmente gerar populações de células B que se ligam com alta afinidade ao epítopo originalmente reconhecido de maneira fraca. Uma das metas da vacinação é gerar esses tipos de anticorpos amplamente neutralizantes de alta afinidade, mas até agora isso não foi alcançado de forma consistente.

Mecanismos de Evasão Imune do HIV

O HIV é o protótipo de um patógeno infeccioso que evade as defesas do hospedeiro pela destruição do sistema imune. Além disso, várias características do HIV podem ajudar o vírus a escapar da imunidade do hospedeiro.

O HIV apresenta uma taxa de mutação extremamente elevada por causa da propensão a erros da transcrição reversa e, desta forma, pode evitar a

detecção pelos anticorpos ou células T geradas em resposta às proteínas virais. Estima-se que em uma pessoa infectada, todas as mutações pontuais possíveis do genoma viral ocorram diariamente. Uma região da molécula gp120, denominada alça V3, está entre as porções mais antigenicamente variáveis do vírus; essa porção varia mesmo em isolados do HIV coletados do mesmo indivíduo em momentos diferentes. Muitos epítopos do vírus que poderiam potencialmente servir como alvos dos anticorpos amplamente neutralizantes também são protegidos por açúcares maciços N-ligados que compõem o que é conhecido como escudo de glicanas do HIV.

As células infectadas pelo HIV podem escapar dos CTLs por meio da regulação negativa da expressão de moléculas do MHC de classe I. A proteína Nef do HIV inibe a expressão de moléculas do MHC de classe I principalmente pela promoção da internalização dessas moléculas. Outros mecanismos de inibição da imunidade mediada por células foram demonstrados em alguns casos. Como mencionado anteriormente, esses mecanismos incluem uma inibição preferencial de citocinas Th1, ativação de células T reguladoras e supressão de funções das células dendríticas. Os mecanismos dessas ações do vírus, bem como o seu significado patogênico não estão estabelecidos.

Controladores de Elite e não Progressores de Longo Prazo: Uma Possível Função para os Genes do Hospedeiro

Embora a maioria dos indivíduos infectados pelo HIV eventualmente desenvolva AIDS, aproximadamente 1% dos indivíduos infectados não desenvolvem a doença. Esses indivíduos apresentam alta contagem de células T $CD4^+$ e $CD8^+$, não necessitam de tratamento e podem apresentar viremia persistente, mas nenhuma doença por pelo menos 10 a 15 anos. Com base no grau de viremia, este grupo pode ser dividido em dois subconjuntos: não progressores de longo prazo com viremia detectável de aproximadamente 5 mil cópias de RNA do HIV-1 por mililitro de sangue; e um subconjunto muito menor de controladores de elite, que apresentam carga viral de cerca de 50 cópias, ou menos, de RNA do HIV-1 por mililitro de sangue. Há grande interesse na compreensão da base genética de controle do HIV por meio de exames detalhados destas coortes de indivíduos. Até agora, os estudos de associação gênica sugerem um importante papel do *locus* do MHC na proteção dos indivíduos e prevenção da progressão. *Loci* específicos de HLA de classe I e alguns *loci*

do HLA de classe II foram associados à ausência de progressão da doença. Como mencionado anteriormente, a importância da herança da deleção de 32 pb do CCR5 em homozigose na proteção contra a infecção e de outros fatores genéticos que contribuam para a resistência serão provavelmente revelados nos próximos anos.

Tratamento e Prevenção da AIDS e Desenvolvimento de Vacinas

Esforços ativos de pesquisa têm sido destinados para o desenvolvimento de reagentes que interfiram com o ciclo de vida viral. O tratamento da infecção causada pelo HIV e da AIDS agora envolve tipicamente a administração de três fármacos antivirais, usados em combinação, cujo alvo são moléculas virais para as quais não existem homólogos humanos. Os primeiros medicamentos antirretrovirais amplamente utilizados foram os análogos de nucleosídeos que inibem a atividade da transcriptase reversa viral. Esses fármacos incluem análogos do nucleosídeo desoxitimidina, como a 3′-azido-3′-desoxitimidina (AZT), análogos do nucleosídeo desoxicitidina e análogos do nucleosídeo desoxiadenosina. Quando usados isoladamente, esses fármacos são geralmente eficazes na redução significativa dos níveis plasmáticos de RNA do HIV durante muitos meses ou anos, mas geralmente não bloqueiam a progressão da doença induzida pelo HIV, principalmente em decorrência da evolução viral que gera formas mutantes da transcriptase reversa resistentes aos fármacos. Os inibidores não nucleosídicos da transcriptase reversa se ligam diretamente à enzima e inibem a sua função. Foram desenvolvidos inibidores de proteases virais que bloqueiam o processamento de proteínas precursoras em proteínas maduras do capsídeo viral e do núcleo. Quando esses inibidores de protease são utilizados isoladamente, vírus mutantes resistentes aos seus efeitos surgem. No entanto, os inibidores de proteases representam agora um componente comum de um regime terapêutico constituído por três fármacos, que também inclui dois inibidores da transcriptase reversa diferentes. Esse novo tratamento coom base em três fármacos, normalmente referida como terapia antirretroviral altamente ativa (HAART, do inglês, *highly active antirretroviral therpay*) ou ainda terapia antirretroviral (ART, do inglês, *antirretroviral therapy*), provou-se efetiva na redução do RNA viral plasmático para níveis indetectáveis na maioria dos pacientes tratados por anos. Atualmente, um inibidor da integrase também está disponível para a terapia antiviral. Inibidores de entrada, que previnem a entrada viral tendo como alvo CD4

ou CCR5 na célula hospedeira, ou ainda gp41 ou gp120 no vírus, representam outra nova categoria de agentes terapêuticos. Os fármacos que têm como alvo a gp41 incluem compostos que impedem a fusão do envelope viral com a membrana plasmática da célula hospedeira. Embora a terapia antirretroviral tenha reduzido os títulos virais para níveis abaixo dos detectáveis por até 10 anos em alguns pacientes, é pouco provável que tal tratamento possa eliminar o vírus de todos os reservatórios (especialmente das células infectadas de vida longa), e a resistência aos fármacos podem se desenvolver ao final. Outros problemas consideráveis associados a estas novas terapias com fármacos, que prejudicarão o seu uso efetivo em muitas partes do mundo, incluem o custo elevado e os efeitos adversos significativos. Além disso, em alguns pacientes o vírus desenvolve resistência aos fármacos em uso. Esse problema é normalmente contornado pelo sequenciamento do genoma viral para identificar mutações que podem tornar o vírus resistente, seguido pela mudança adequada do fármaco do regime terapêutico. Outro grande problema é o não prosseguimento com o tratamento por parte dos pacientes.

Uma proporção dos pacientes que recebem a ART sofre de uma manifestação aberrante conhecida como síndrome inflamatória de reconstituição imune, que pode ser desencadeada pelo reconhecimento de patógenos preexistentes pelo sistema imunológico. Essa manifestação geralmente acompanha a restauração das contagens de células T $CD4^+$ e um declínio da carga viral.

As infecções individuais desenvolvidas por pacientes com AIDS são tratadas por meio de profilaxia adequada, antibióticos e medidas de suporte. Muitas vezes é necessária a utilização de um antibioticoterapia mais agressiva do que seria aplicada para infecções semelhantes em hospedeiros menos comprometidos.

As medidas de prevenção da infecção causada pelo HIV são extremamente importantes e potencialmente eficazes no controle da epidemia do HIV. Nos Estados Unidos, a triagem de rotina dos hemoderivados para detecção pelo HIV em doadores já reduziu o risco desta forma de transmissão para níveis insignificantes. Várias medidas de saúde pública para aumentar o uso de preservativos e para reduzir o uso de agulhas contaminadas por usuários de drogas injetáveis estão se generalizando. Talvez os esforços mais eficazes para a prevenção sejam as campanhas para aumentar a consciência pública sobre o HIV. Ensaios clínicos demonstraram que a administração de drogas antirretrovirais em mães grávidas é eficaz na prevenção da infecção dos recém-nascidos. O

uso profilático destes fármacos em pacientes de alto risco também reduz a taxa de infecção.

O desenvolvimento de uma vacina eficaz contra o HIV é uma prioridade para as instituições de pesquisa biomédica em todo o mundo. Essa tarefa tem sido complicada pela capacidade de mutação do vírus e variação de muitos dos seus antígenos imunogênicos. É provável que uma vacina eficaz tenha que estimular tanto a resposta humoral como resposta mediada por células contra antígenos virais essenciais para o ciclo de vida viral. Para atingir esse objetivo, várias abordagens estão sendo avaliadas para o desenvolvimento de vacinas contra o HIV. Muitos trabalhos preliminares envolveram a infecção de macacos pelo vírus da imunodeficiência símia (SIV, do inglês, *simian immunodeficiency virus*), e vacinas eficazes contra o SIV já foram desenvolvidas. Esse sucesso é encorajador, pois o SIV é molecularmente muito relacionado ao HIV e provoca uma doença em macacos semelhante à AIDS em seres humanos. Várias vacinas de vírus vivos foram testadas na esperança de que induzissem fortes respostas por CTLs. Tais vacinas incluem vírus híbridos recombinantes não virulentos compostos por sequências parciais do SIV e do HIV ou por vírus que tenham sido atenuados por deleções em uma ou mais partes do genoma viral, como o gene *nef*. Uma preocupação em relação às vacinas de vírus vivos é o seu potencial de causar a doença se não forem completamente atenuados e, possivelmente, a possibilidade de recombinarem com o HIV selvagem, produzindo uma variante patogênica. Outra abordagem que evita esse problema de segurança, mas retém a eficácia na indução da imunidade mediada por CTLs, é o uso de vetores virais recombinantes vivos não HIV carregando genes do HIV. Testes preliminares em voluntários humanos mostraram que as vacinas usando o vírus da varíola do canário (*canarypox*) expressando vários genes do HIV-1 podem induzir fortes respostas dos CTL aos antígenos do HIV. Entretanto, a proteção mediada pela maioria das vacinas contra o HIV têm sido modesta até o momento. Muitas vacinas de DNA também têm sido estudadas; essas vacinas são constituídas por combinações de genes estruturais e reguladores do HIV ou do SIV empacotados em vetores de expressão de DNA de mamíferos. As vacinas de subunidade contendo proteínas recombinantes ou peptídeos que induzem respostas de anticorpos apresentaram valor limitado até o momento porque os anticorpos induzidos por essas vacinas tipicamente não neutralizam os isolados clínicos do HIV.

A imunoprofilaxia vetorizada é uma forma de imunidade na qual uma proteína que pode mediar a proteção imune é sintetizada pelo hospedeiro

normalmente após a inoculação do DNA específico no músculo esquelético. Em uma das abordagens que está sendo avaliada atualmente em um ensaio clínico, os genes de cadeia pesada e leve da Ig que codificam um anticorpo amplamente neutralizante contra o HIV foram clonados em um vetor viral adenovírus-associado, e esse DNA foi injetado no músculo de voluntários. Uma abordagem alternativa que tem funcionado bem em modelos símios é a expressão pelo hospedeiro de um gene de fusão constituído por um CD4-Ig ligado a um pequeno sulfopeptídeo mimético de CCR5. Essa proteína de fusão previne efetivamente a entrada do SIV em células T $CD4^+$. É possível que, caso uma vacina contra o HIV fracasse, abordagens de imunoprofilaxia vetorizada sejam utilizadas para controlar a propagação do HIV.

Resumo

- As doenças de imunodeficiência são causadas por defeitos congênitos ou adquiridos em linfócitos, fagócitos e outros mediadores da imunidade adaptativa e inata. Essas doenças estão associadas ao aumento da susceptibilidade à infecção, cuja natureza e gravidade dependem em grande parte de qual componente do sistema imune está anormal e a extensão dessa anormalidade.
- Os distúrbios da imunidade inata abrangem defeitos na destruição microbiana por fagócitos (p. ex.: DGC ou síndrome de Chédiak-Higashi), na migração e adesão de leucócitos (p. ex.: LAD), na sinalização por TLR e no complemento.
- As imunodeficiências combinadas graves abrangem defeitos no desenvolvimento dos linfócitos que afetam tanto as células T como as células B e são causadas por deficiências na sinalização de citocinas, metabolismo anormal das purinas, recombinação V(D)J defeituosa e mutações que afetam a maturação das células T.
- As imunodeficiências de anticorpos abrangem doenças causadas pela maturação ou ativação deficiente das células B e por defeitos na colaboração das células T e B (síndrome de hiper-IgM ligada ao X).
- As imunodeficiências das células T abrangem doenças nas quais a expressão das moléculas do MHC é defeituosa, distúrbios na sinalização das células T e doenças raras que envolvem as funções dos CTLs e das células NK.
- O tratamento das imunodeficiências congênitas envolve transfusões de anticorpos, transplante células-tronco ou reposição enzimática. A terapia gênica pode oferecer melhores tratamentos no futuro.
- As imunodeficiências adquiridas são causadas por infecções, desnutrição, câncer disseminado e terapia imunossupressora para a rejeição do transplante ou doenças autoimunes.
- A AIDS é uma imunodeficiência grave causada pela infecção com o HIV. O retrovírus infecta os linfócitos T $CD4^+$, macrófagos e células dendríticas, e causa uma disfunção progressiva do sistema imune. A maior parte da imunodeficiência na AIDS pode ser atribuída à depleção de células T $CD4^+$.

- O HIV entra nas células ligando-se à molécula CD4 e a um correceptor da família dos receptores de quimiocinas. Uma vez no interior da célula, o genoma viral é transcrito de forma reversa em DNA e incorporado ao genoma celular. A transcrição dos genes virais e a replicação viral são estimulados por sinais que normalmente ativam a célula hospedeira. A produção do vírus é acompanhada pela morte das células infectadas.
- A fase aguda da infecção é caracterizada por morte de células T $CD4^+$ de memória em tecidos de mucosa e disseminação do vírus para os linfonodos. Na fase latente subsequente, há baixos níveis de replicação viral nos tecidos linfoides e uma perda lenta e progressiva de células T. A ativação persistente das células T promove a sua morte, levando à rápida perda e imunodeficiência na fase crônica da infecção.
- A depleção das células T $CD4^+$ em indivíduos infectados pelo HIV deve-se aos efeitos citopáticos diretos do vírus, efeitos tóxicos de produtos virais como a liberação de gp120, e aos efeitos indiretos, como a morte celular induzida por ativação ou morte das células T $CD4^+$ infectadas por CTLs.
- Existem vários reservatórios do HIV em indivíduos infectados, incluindo as células T $CD4^+$ ativadas de vida curta, macrófagos de vida mais longa e células T de memória de vida muito longa infectadas de forma latente.
- A depleção de células T $CD4^+$ induzida pelo HIV resulta em aumento da suscetibilidade à infecções por inúmeros microrganismos oportunistas. Além disso, os pacientes infectados pelo HIV apresentam aumento de incidência de tumores, particularmente sarcoma de Kaposi e linfomas de células B associados ao EBV, além de encefalopatia. A incidência dessas complicações foi bastante reduzida com o uso da terapia antirretroviral.
- O HIV apresenta uma taxa de mutação elevada, permitindo que o vírus evada as respostas imunes do hospedeiro e torne-se resistente às terapias medicamentosas. A variabilidade genética também representa um problema para o desenho de uma vacina eficaz contra o HIV. A infecção pelo HIV pode ser tratada por meio de uma combinação de inibidores das enzimas virais.

Referências Sugeridas

Imunodeficiências Congênitas (Primárias)

Bogaert DJ, Dullaers M, Lambrecht BN, et al. Genes associated with common variable immunodeficiency: one diagnosis to rule them all? *J Med Genet*. 2016;53:575–590.

Casanova JL. Severe infectious diseases of childhood as monogenic inborn errors of immunity. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2015;35:696–726.

Chen X, Jensen PE. MHC class II antigen presentation and immunological abnormalities due to deficiency of MHC class II and its associated genes. *Exp Mol Pathol*. 2008;85:40–44.

Conley ME, Casanova JL. Discovery of single-gene inborn errors of immunity by next generation sequencing. *Curr Opin Immunol*. 2014;30:17–23.

Fischer A, Hacein-Bey Abina S, Touzot F, Cavazzana M. Gene therapy for primary immunodeficiencies. *Clin Genet*. 2015;88:507–515.

Fischer A, Rausell A. Primary immunodeficiencies suggest redundancy within the human immune system. *Sci Immunol*. 2016;1(6).

Grimbacher B, Warnatz K, Yong PF, et al. The crossroads of autoimmunity and immunodeficiency: lessons from polygenic traits and monogenic defects. *J Allergy Clin Immunol*. 2016;137:3–17.

Grom AA, Horne A, De Benedetti F. Macrophage activation syndrome in the era of biologic therapy. *Nat Rev Rheumatol*. 2016;12:259–268.

Haddad E, Leroy S, Buckley RH. B-cell reconstitution for SCID: should a conditioning regimen be used in SCID treatment? *J Allergy Clin Immunol*. 2013;131:994–1000.

Lavin MF. Ataxia-telangiectasia: from a rare disorder to a paradigm for cell signalling and cancer. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2008;9:759–769.

Notarangelo LD, Kim MS, Walter JE, Lee YN. Human RAG mutations: biochemistry and clinical implications. *Nat Rev Immunol*. 2016;16:234–246.

Parvaneh N, Casanova JL, Notarangelo LD, Conley ME. Primary immunodeficiencies: a rapidly evolving story. *J Allergy Clin Immunol*. 2013;131:314–323.

Picard C, Al-Herz W, Bousfiha A, et al. Primary immunodeficiency diseases: an update on the classification from the International Union of Immunological Societies Expert Committee for Primary Immunodeficiency 2015. *J Clin Immunol*. 2015;35:696–726.

HIV e AIDS

Altfeld M, Gale Jr M. Innate immunity against HIV-1 infection. *Nat Immunol*. 2015;16:554–562.

Brenchley JM, Price DA, Douek DC. HIV disease: fallout from a mucosal catastrophe? *Nat Immunol*. 2006;7:235–239.

Burton DR, Mascola JR. Antibody responses to envelope glycoproteins in HIV-1 infection. *Nat Immunol*. 2015;16:571–576.

Derdeyn CA, Silvestri G. Viral and host factors in the pathogenesis of HIV infection. *Curr Opin Immunol*. 2005;17:366–373.

Goulder PJ, Lewin SR, Leitman EM. Paediatric HIV infection: the potential for cure. *Nat Rev Immunol*. 2016;16:259–271.

Haase AT. Perils at mucosal front lines for HIV and SIV and their hosts. *Nat Rev Immunol*. 2005;5:783–792.

Haynes BF, Shaw GM, Korber B, et al. HIV-Host Interactions: implications for Vaccine Design. *Cell Host Microbe*. 2016;19:292–303.

Hladik F, McElrath MJ. Setting the stage: host invasion by HIV. *Nat Rev Immunol*. 2008;8:447–457.

Johnston MI, Fauci AS. An HIV vaccine—evolving concepts. *NEJM*. 2007;356:2073–2081.

Jones RB, Walker BD. HIV-specific CD8(+) T cells and HIV eradication. *J Clin Invest*. 2016;126:455–463.

McMichael AJ, Borrow P, Tomaras GD, et al. The immune response during acute HIV-1 infection: clues for vaccine development. *Nat Rev Immunol*. 2010;10:11–23.

Nixon DF, Aandahl EM, Michaelsson J. $CD4^{+}CD25^{+}$ regulatory T cells in HIV infection. *Microbes Infect*. 2005;7:1063–1065.

Stephenson KE, D'Couto HT, Barouch DH. New concepts in HIV-1 vaccine development. *Curr Opin Immunol*. 2016;41:39–46.

Glossário

Adjuvante Substância, distinta do antígeno, que aumenta a ativação de células T e B principalmente pela promoção do acúmulo e ativação de células apresentadoras de antígenos (APCs) no local da exposição ao antígeno. Os adjuvantes estimulam a expressão de coestimuladores ativadores de células T e de citocinas pelas APCs e também podem prolongar a expressão de complexos peptídeo-MHC na superfície das APCs.

Adressina Molécula de adesão expressa nas células endoteliais em diferentes locais anatômicos que direcionam o *homing* dos linfócitos a locais específicos. A molécula adressina de adesão celular da mucosa 1 (MadCAM-1) é um exemplo de adressina expressa nas placas de Peyer, na parede intestinal, que se liga à integrina $\alpha_4\beta_7$ das células T de *homing* intestinal.

Afinidade Força de ligação entre um único sítio de ligação de uma molécula (p. ex.: um anticorpo) e de um ligante (p. ex.: um antígeno). A afinidade de uma molécula X por um ligante Y é representada pela constante de dissociação (K_d), que é a concentração de Y necessária para ocupar os sítios de ligação de metade das moléculas X presentes em uma solução. Um K_d menor indica uma afinidade de interação mais forte ou maior, e uma concentração menor de ligante é necessária para ocupar os sítios.

Agamaglobulinemia ligada ao X Doença de imunodeficiência, também chamada de agamaglobulinemia de Bruton, caracterizada pelo bloqueio de maturação da célula B em estágio precoce e pela ausência de Ig sérica. Pacientes sofrem de infecções bacterianas piogênicas. A doença é causada por mutações ou deleções no gene que codifica Btk, uma enzima envolvida na transdução do sinal nas células B em desenvolvimento.

Alelo Uma das diferentes formas do mesmo gene presente em um *locus* particular do cromossomo. Um indivíduo heterozigoto em um *locus* possui dois diferentes alelos, cada um em um membro diferente do par de cromossomos, um herdado da mãe e outro herdado do pai. Se um gene em particular em uma população tem diferentes alelos, o gene ou *locus* é chamado de polimórfico. Os genes MHC têm muitos alelos (i.e., são altamente polimórficos).

Alérgeno Antígeno que elicita uma reação de hipersensibilidade imediata (alérgica). Os alérgenos são proteínas ou compostos químicos ligados a proteínas que induzem respostas de anticorpo IgE em indivíduos atópicos.

Alergia Distúrbio causado por uma reação de hipersensibilidade imediata, frequentemente denominada de acordo com o tipo de antígeno (alérgeno) que elicita a doença, tais como alergia alimentar, alergia à picada de abelha e alergia à penicilina. Todas essas condições são o resultado da produção de IgE estimulada pelas células T auxiliares produtoras de IL-4, seguida pela ativação de mastócitos dependente do alérgeno e de IgE.

Aloanticorpo Anticorpo específico para um aloantígeno (i.e., um antígeno presente em alguns indivíduos de uma espécie, mas não em outros).

Aloantígeno Um antígeno celular ou tecidual presente em alguns indivíduos de uma espécie, mas não em outros, que é reconhecido como estranho ou como um aloenxerto. Os aloantígenos normalmente são produtos de gene polimórficos.

Aloantissoro Soro contendo aloanticorpo de um indivíduo que foi previamente exposto a um ou mais aloantígenos.

Alorreativo Reativo a aloantígenos; descreve as células T ou anticorpos de um indivíduo que reconhecerão os antígenos nas células ou tecidos de outro indivíduo geneticamente não idêntico.

Alótipo Propriedade de um grupo de moléculas de anticorpos definida pelo compartilhamento de um determinante antigênico em particular encontrado nos anticorpos de alguns indivíduos,

mas não de outros. Tais determinantes são chamados de **alótopos**. Anticorpos que compartilham um alótopo particular pertencem ao mesmo alótipo. *Alótipo* também é frequentemente usado como sinônimo de *alótopo*.

Aminas vasoativas Compostos não lipídicos de baixo peso molecular, como a histamina, que possuem um grupo amina, são armazenados e liberados dos grânulos citoplasmáticos dos mastócitos e medeiam muitos dos efeitos biológicos das reações de hipersensibilidade imediata (alérgica). (Também chamadas de aminas biogênicas.)

Anafilatoxinas Fragmentos C5a, C4a e C3a do complemento gerados durante sua ativação. As anafilatoxinas ligam-se a receptores específicos na superfície celular e promovem inflamação aguda pela estimulação da quimiotaxia de neutrófilos e da ativação de mastócitos.

Anafilaxia Forma severa de hipersensibilidade imediata na qual há ativação sistêmica de mastócitos e basófilos e liberação de mediadores que causam broncoconstrição, edema tecidual e colapso cardiovascular.

Anergia Estado de não responsividade à estimulação antigênica. A anergia de linfócitos (também chamada de anergia clonal) é a falha dos clones de células T ou B reagirem ao antígeno e é um mecanismo de manutenção da tolerância imunológica ao próprio. Clinicamente, a anergia descreve a ausência de reações de hipersensibilidade cutânea do tipo retardada dependente de célula T aos antígenos comuns.

Anergia clonal Estado de não responsividade de um clone de linfócitos T ao antígeno, experimentalmente induzido pelo reconhecimento do antígeno na ausência de sinais adicionais (sinais coestimuladores) necessários para a ativação funcional. A anergia clonal é considerada um modelo para um dos mecanismos de tolerância aos autoantígenos e também pode ser aplicável aos linfócitos B.

Angiogênese Formação de novos vasos sanguíneos regulada por uma variedade de fatores proteicos elaborados pelas células dos sistemas imunes inato e adaptativo e frequentemente acompanhada por inflamação crônica.

Antagonista do receptor de IL-1 (IL-1Ra, do inglês, *IL-1 receptor antagonist*) Um inibidor natural da IL-1 produzido por fagócitos mononucleares que é estruturalmente homólogo à IL-1 e se liga aos mesmos receptores, mas é biologicamente inativo. IL-1Ra é usado como droga no tratamento de síndromes autoinflamatórias causadas pela desregulação da produção de IL-1.

Anticorpo Tipo de molécula glicoproteica, também chamada de imunoglobulina (Ig), produzida pelos linfócitos B e que se liga aos antígenos, frequentemente com alto grau de especificidade e afinidade. A unidade estrutural básica de um anticorpo é composta de duas cadeias pesadas idênticas e duas cadeias leves idênticas. As regiões variáveis N-terminais das cadeias pesada e leve formam o sítio de ligação ao antígeno, enquanto as regiões constantes C-terminais das cadeias pesadas interagem funcionalmente com outras moléculas no sistema imune. Cada indivíduo possui milhões de anticorpos diferentes, cada um com um sítio de ligação ao antígeno único. Os anticorpos secretados desempenham várias funções efetoras, incluindo neutralização de antígenos, ativação do complemento e promoção da destruição de microrganismos dependente de leucócitos.

Anticorpo humanizado Anticorpo monoclonal codificado por um gene recombinante híbrido e composto de sítios de ligação antigênica de um anticorpo monoclonal murino e da região constante de um anticorpo humano. Os anticorpos humanizados são menos propensos em induzir uma resposta antianticorpo em humanos do que os anticorpos monoclonais de camundongo; eles são usados clinicamente no tratamento de doenças inflamatórias, tumores e rejeição dos transplantes.

Anticorpo monoclonal Anticorpo que é específico para um antígeno e é produzido por um hibridoma de célula B (uma linhagem

celular derivada da fusão de uma única célula B normal e uma linhagem tumoral de célula B imortal). Os anticorpos monoclonais são amplamente usados em pesquisa, diagnóstico clínico e terapia.

Anticorpos naturais Anticorpos IgM, produzidos principalmente pelas células B-1, específicos para bactérias que são comuns no ambiente e no trato gastrointestinal. Indivíduos normais possuem anticorpos naturais sem qualquer evidência de infecção e esses anticorpos servem como um mecanismo de defesa pré-formado contra microrganismos que conseguem penetrar as barreiras epiteliais. Alguns desses anticorpos reagem cruzadamente com antígenos do grupo sanguíneo ABO e são responsáveis por reações transfusionais.

Antígeno Molécula que se liga a um anticorpo ou a um TCR. Antígenos que se ligam aos anticorpos incluem todas as classes de moléculas. A maioria dos TCRs ligam-se somente a fragmentos peptídicos de proteínas complexados com moléculas de MHC; tanto o ligante peptídico quanto a proteína nativa do qual é derivado são chamados de **antígenos de células T**.

Antígeno carcinoembriônico (CEA, CD66, do inglês, *carcioembryonic antigen*) Proteína de membrana altamente glicosilada; a expressão aumentada de CEA em muitos carcinomas de cólon, pâncreas, estômago e mama resulta em elevação de seus níveis séricos. O nível de CEA sérico é usado para monitorar a persistência ou recorrência do carcinoma metastático após o tratamento.

Antígeno de transplante tumor-específico (TSTA, do inglês, *tumor-specific transplantation antigen*) Antígeno expresso nas células tumorais de animais de experimentação que pode ser detectado pela indução da rejeição imunológica dos transplantes tumorais. Os TSTAs foram originalmente definidos em sarcomas murinos quimicamente induzidos e mostrados como capazes de estimular a rejeição dos transplantes tumorais mediada por CTL.

Antígeno oncofetal Proteínas que são expressas em altos níveis em alguns tipos de células cancerosas e nos tecidos fetais em desenvolvimento (mas não em adultos). Anticorpos específicos para essas proteínas são frequentemente usados na identificação histopatológica de tumores ou para monitorar a progressão do crescimento tumoral em pacientes. CEA (CD66) e α-fetoproteína são dois antígenos oncofetais comumente expressos por certos carcinomas.

Antígeno T-dependente Antígeno que necessita tanto de células B quando de células T auxiliares para estimular uma resposta de anticorpo. Os antígenos T-dependentes são antígenos proteicos que contêm alguns epítopos reconhecidos pelas células T e outros epítopos reconhecidos pelas células B. As células T auxiliares produzem citocinas e moléculas de superfície celular que estimulam o crescimento e a diferenciação das células B em células secretoras de anticorpos. As respostas imunes humorais aos antígenos T-dependentes são caracterizadas pela troca de isotipo, maturação de afinidade e memória.

Antígeno T-independentes Antígenos não proteicos, tais como polissacarídeos e lipídeos, que podem estimular respostas de anticorpo sem a necessidade de linfócitos T auxiliares antígeno-específicos. Antígenos T-independentes normalmente contêm múltiplos epítopos idênticos que podem ligar de maneira cruzada a Ig de membrana das células B e, assim, ativá-las. As respostas imunes humorais aos antígenos T-independentes mostram relativamente pouca troca de isotipo de cadeia pesada ou maturação de afinidade, dois processos que necessitam de sinais provenientes das células T auxiliares.

Antígeno tumor-específico Antígeno cuja expressão é restrita a um tumor em particular e não é expresso pelas células normais. Os antígenos tumor-específicos podem servir como antígenos-alvo para respostas imunes antitumorais.

Antígenos do grupo sanguíneo ABO Antígenos de carboidratos ligados principalmente a proteínas ou lipídeos de superfície

celular que estão presentes em muitos tipos celulares, incluindo hemácias. Esses antígenos diferem entre os indivíduos, dependendo de alelos herdados que codificam as enzimas necessárias para a síntese dos antígenos de carboidratos. Os antígenos ABO agem como aloantígenos que são responsáveis pelas reações transfusionais sanguíneas e na rejeição hiperaguda a aloenxertos.

Antígenos do grupo sanguíneo Rh Sistema complexo de aloantígenos proteicos expressos nas membranas das hemácias e que são a causa das reações transfusionais e da doença hemolítica no recém-nascido. O antígeno Rh clinicamente mais importante é designado D.

Antígenos leucocitários humanos (HLA, do inglês, *human leukocyte antigens*) Moléculas do MHC expressas na superfície das células humanas. As moléculas de MHC humanas foram primeiramente identificadas como aloantígenos na superfície das células brancas sanguíneas (leucócitos) que ligam anticorpos séricos em indivíduos previamente expostos a células de outros indivíduos (p. ex.: mães ou receptores de transfusão) (ver também **molécula do complexo principal de histocompatibilidade [MHC]**).

Antissoro Soro de um indivíduo previamente imunizado com um antígeno e que contém anticorpo específico para aquele antígeno.

Apoptose Processo de morte celular caracterizado pela ativação de caspases intracelulares, quebra de DNA, condensação e fragmentação nuclear e *blebbing* na membrana plasmática (alterações na membrana com exposição/ocultação de moléculas, semelhante a um "borbulhamento"), que levam à fagocitose dos fragmentos celulares sem indução de uma resposta inflamatória. Esse tipo de morte celular é importante no desenvolvimento dos linfócitos, retorno à hemostasia após uma resposta imune a uma infecção, manutenção da tolerância aos autoantígenos e morte de células infectadas pelos linfócitos T citotóxicos e células *natural killer*.

Apresentação cruzada Mecanismo pelo qual uma célula dendrítica ativa (ou condiciona) uma CTL $CD8^+$ *naive* específica para antígenos de uma terceira célula (p. ex.: infectada por um vírus infectado ou uma célula tumoral). A apresentação cruzada ocorre, por exemplo, quando uma célula infectada (frequentemente apoptótica) é ingerida por uma célula dendrítica e os antígenos microbianos são processados e apresentados em associação a moléculas do MHC de classe I, ao contrário da regra geral para antígenos fagocitados, os quais são apresentados em associação a moléculas do MHC de classe II. A célula dendrítica também fornece coestimulação para as células T. Também chamada de ***cross-priming***.

Apresentação de antígenos Exposição de peptídeos ligados às moléculas de MHC na superfície de uma APC que permite o reconhecimento específico pelos TCRs e a ativação das células T.

Apresentação direta de antígenos (ou alorreconhecimento direto) Apresentação de moléculas de MHC alogênica na superfície celular por APCs do enxerto para as células T do receptor de um enxerto, e que leva à ativação das células T alorreativas. No reconhecimento direto das moléculas de MHC alogênicas, um TCR que foi selecionado para reconhecer uma molécula de MHC própria ligada a um peptídeo estranho reage cruzadamente com moléculas de MHC alogênicas ligadas ao peptídeo. A apresentação direta é parcialmente responsável pelas fortes respostas de células T aos aloenxertos.

Apresentação indireta de antígenos (ou alorreconhecimento indireto) Na imunologia do transplante, é a via de apresentação das moléculas de MHC do doador (alogênica) pelas APCs do receptor que envolve os mesmos mecanismos usados para apresentação das proteínas microbianas. As proteínas de MHC alogênicas são processadas pelas APCs profissionais do receptor e os peptídeos derivados das moléculas de MHC alogênicas são apresentados em associação as moléculas de MHC do receptor (próprias) às células T do hospedeiro. Em contraste à apresentação indireta de antígeno, a apresentação direta de

antígeno envolve o reconhecimento de moléculas de MHC alogênicas não processadas na superfície das células do transplante pela célula T do receptor.

Arteriosclerose do enxerto Oclusão de artérias do enxerto causada pela proliferação das células musculares lisas da íntima. Esse processo é evidente dentro de 6 meses a 1 ano após o transplante e é responsável pela rejeição crônica de enxertos de órgãos vascularizados. O mecanismo é provavelmente uma resposta imune crônica aos aloantígenos da parede do vaso. Arteriosclerose do enxerto é também chamada de arteriosclerose acelerada.

Artrite reumatoide Doença autoimune caracterizada primariamente pelo dano inflamatório nas articulações e, algumas vezes, inflamação dos vasos sanguíneos, pulmões e outros tecidos. Células T $CD4^+$, linfócitos B ativados e plasmócitos são encontrados nos revestimentos da articulação inflamada (sinóvia) e numerosas citocinas pró-inflamatórias, incluindo IL-1 e TNF, estão presentes no fluido sinovial (articular).

Asma brônquica Doença inflamatória normalmente causada por repetidas reações de hipersensibilidade imediata nos pulmões que leva a obstrução intermitente e reversível das vias aéreas, inflamação brônquica crônica com eosinófilos e hipertrofia e hiperreatividade das células do músculo liso brônquico.

Ativação alternativa de macrófagos Ativação de macrófagos por IL-4 e IL-13 que induz um fenótipo anti-inflamatório e reparador tecidual, em contraste à ativação clássica de macrófagos por interferon-γ e ligantes de TLR.

Ativação clássica de macrófagos Ativação de macrófagos por interferon-γ, células Th1 e ligantes de TLR, levando a um fenótipo pró-inflamatório e microbicida. Macrófagos "ativados classicamente" também são chamados de macrófagos M1.

Ativadores policlonais Agentes que são capazes de ativar muitos clones de linfócitos, a despeito de suas especificidades

antigênicas. Exemplos de ativadores policlonais incluem anticorpos anti-IgM para células B e anticorpos anti-CD3, superantígenos bacterianos e PHA para células T.

Atopia Propensão de um indivíduo em produzir anticorpos IgE em resposta a vários antígenos ambientais e em desenvolver fortes respostas de hipersensibilidade imediata (alergia). Indivíduos que possuem alergias a antígenos ambientais, tais como pólen ou poeira doméstica, são chamados atópicos.

Autoanticorpo Anticorpo produzido em um indivíduo que é específico para seu próprio antígeno. Os autoanticorpos podem causar danos a células e tecidos e são produzidos em excesso nas doenças autoimunes sistêmicas, como o lúpus eritematoso sistêmico.

Autofagia Processo normal pelo qual a célula degrada seus próprios componentes por catabolismo lisossomal. A autofagia tem papel na defesa imune inata contra infecções e polimorfismos de genes que regulam a autofagia estão ligados a risco de algumas doenças autoimunes.

Autoimunidade Estado de responsividade do sistema imune adaptativo aos antígenos próprios que ocorre quando os mecanismos de autotolerância falham.

Autotolerância Não responsividade do sistema imune adaptativo aos antígenos próprios, amplamente como resultado da inativação ou morte dos linfócitos autorreativos induzida pela exposição a esses antígenos. A autotolerância é uma característica fundamental do sistema imune normal e a falha na autotolerância leva a doenças autoimunes.

Avidez Força geral das interações entre duas moléculas, tais como um anticorpo e um antígeno. A avidez depende tanto da afinidade quanto da valência das interações. Dessa maneira, a avidez de um anticorpo IgM pentamérico, com 10 sítios de ligação aos antígenos, pode ser muito maior para um antígeno multivalente do que a avidez de uma molécula IgG dimérica para o mesmo antígeno. A avidez pode ser usada para descrever as

forças de interações célula-célula, as quais são mediadas por muitas interações de ligações entre moléculas da superfície celular.

Baço Órgão linfoide secundário localizado no quadrante superior esquerdo do abdome. O baço é o principal sítio de respostas imunes adaptativas aos antígenos originados do sangue. A polpa vermelha do baço é composta de sinusoides vasculares repletos de sangue recobertos por fagócitos ativos que ingerem antígenos opsonizados e hemácias danificadas. A polpa branca do baço contém linfócitos e folículos linfoides nos quais as células B são ativadas.

Bactéria intracelular Bactéria que sobrevive ou replica dentro das células, normalmente nos endossomos. O principal mecanismo de defesa contra bactérias intracelulares, tais como *Mycobacterium tuberculosis*, é a imunidade mediada pelas células T.

Bactérias piogênicas Bactérias, tais como estafilococos e estreptococos Gram-positivos, que induzem respostas inflamatórias ricas em leucócitos polimorfonucleares (dando origem ao pus). Respostas de anticorpos a essas bactérias aumentam consideravelmente a eficácia dos mecanismos efetores imunes inatos para eliminar infecções.

Bainha linfoide periarteriolar (PALS, do inglês, *periarteriolar lymphoid sheath*) Bainha de linfócitos ao redor das pequenas arteríolas no baço, adjacente aos folículos linfoides. Uma PALS contém principalmente linfócitos T, aproximadamente dois terços destes são $CD4^+$ e um terço é $CD8^+$. Nas respostas imunes humorais aos antígenos proteicos, os linfócitos B são ativados na interface entre a PALS e os folículos e então migram para dentro dos folículos para formar os centros germinativos.

Basófilo Tipo de granulócito circulante derivado da medula óssea com semelhanças estruturais e funcionais com os mastócitos, que contém grânulos com muitos dos mesmos mediadores inflamatórios dos mastócitos e expressa receptores Fc de alta afinidade para IgE. Os basófilos que são recrutados para os sítios

teciduais onde o antígeno está presente podem contribuir para as reações de hipersensibilidade imediata.

Bcl-6 Repressor transcricional que é necessário para o desenvolvimento de células B do centro germinativo e de células Tfh.

BLIMP-1 Repressor transcricional necessário para a geração do plasmócitos.

Bloqueio de ponto de controle Forma de imunoterapia para o câncer na qual anticorpos bloqueadores específicos para moléculas inibidoras de células T, incluindo PD-1, PD-L1 e CTLA-4, são administrados a pacientes com câncer para melhorar a resposta antitumoral de células T. Essa abordagem tem sido efetivamente bem-sucedida para o tratamento de diversos tipos de câncer metastáticos agressivos que não são responsivos a outras terapias.

***Burst* respiratório** Processo pelo qual intermediários reativos de oxigênio, tais como o ânion superóxido, o radical hidroxila e o peróxido de hidrogênio, são produzidos em neutrófilos e macrófagos. O *burst* respiratório, ou explosão respiratória, é mediado pela enzima oxidase do fagócito e é normalmente disparado por mediadores inflamatórios, tais como as citocinas IFN-γ e TNF, ou por produtos bacterianos, tais como o LPS.

C1 Proteína sérica do sistema complemento composta de várias cadeias polipeptídicas que iniciam a via clássica da ativação do complemento pela ligação às porções Fc do anticorpo IgG ou IgM ligado ao antígeno.

C2 Proteína da via clássica do complemento que é proteoliticamente clivada pelo C1 ativado gerando C2a, o qual forma parte da C3 convertase da via clássica.

C3 Proteína central e mais abundante do sistema complemento; está envolvida tanto na cascata da via clássica quando da via alternativa. O C3 é clivado proteoliticamente durante a ativação do complemento para gerar um fragmento C3b, o qual se liga

covalentemente às superfícies celulares ou de microrganismos, e um fragmento C3a, o qual possui diversas atividades pró-inflamatórias.

C3 convertase Complexo enzimático multiproteico gerado por etapas iniciais das vias clássica, da lectina e alternativa de ativação do complemento. A C3 convertase cliva o C3, o qual origina dois produtos proteolíticos denominados C3a e C3b.

C4 Proteína da via clássica do complemento é que clivada proteoliticamente pelo C1 ativado gerando C4b, o qual forma parte da C3 convertase da via clássica.

C5 Proteína que é clivada pelas C5 convertases em todas as vias do complemento, gerando um fragmento C5b, o qual inicia a formação complexo de ataque à membrana, e um fragmento C5a, o qual possui diversas atividades pró-inflamatórias.

C5 convertase Complexo enzimático multiproteico gerado pela ligação de C3b a C3 convertase. A C5 convertase cliva o C5 e inicia os estágios finais da ativação do complemento, levando à formação do complexo de ataque à membrana e lise das células.

Cadeia invariante (I_i) Proteína não polimórfica que se liga às moléculas de MHC de classe II recém-sintetizadas no retículo endoplasmático. A cadeia invariante previne o carregamento de peptídeos presentes no retículo endoplasmático na fenda de ligação ao peptídeo do MHC de classe II, e tais peptídeos então se associam às moléculas de classe I. A cadeia invariante também promove o dobramento e a montagem das moléculas de classe II e direciona moléculas de classe II recém-sintetizadas para o compartimento endossomal especializado MIIC, onde o carregamento do peptídeo ocorre.

Cadeia J (juncional) Pequeno polipeptídeo ligado à extremidade de anticorpos IgM e IgA multiméricos por pontes dissulfeto e que contribui para o transporte transepitelial dessas imunoglobulinas.

Cadeia leve de imunoglobulina Um dos dois tipos de cadeias polipeptídicas em uma molécula de anticorpo. A unidade

estrutural básica de um anticorpo inclui duas cadeias leves idênticas, cada uma ligada por ponte dissulfeto a uma das duas cadeias pesadas idênticas. Cada cadeia leve é composta de um domínio Ig variável (V) e um domínio Ig constante (C). Há dois isotipos de cadeia leve, chamadas κ e λ, ambos funcionalmente idênticos. Aproximadamente 60% dos anticorpos humanos possuem cadeias leve κ enquanto 40% apresentam cadeias leve λ.

Cadeia pesada de imunoglobulina Um dos dois tipos de cadeias polipeptídicas em uma molécula de anticorpo. A unidade estrutural básica de um anticorpo inclui duas cadeias pesadas idênticas ligadas por ponte dissulfeto e duas cadeias leves idênticas. Cada cadeia pesada é composta de um domínio Ig variável (V) e três ou quatro domínios Ig constantes (C). Os diferentes isotipos de anticorpos, incluindo IgM, IgD, IgG, IgA e IgE, são distinguidos por diferenças estruturais nas regiões constantes de suas cadeias pesadas. As regiões constantes da cadeia pesada também medeiam funções efetoras, tais como ativação do complemento ou engajamento de fagócitos.

Cadeia ζ Proteína transmembranar expressa em células T como parte do complexo TCR que contém ITAMs em sua cauda citoplasmática e se liga à tirosina quinase proteica ZAP-70 durante a ativação da célula T.

Cadeias leves substitutas Duas proteínas não variáveis que se associam às cadeias pesadas μ da Ig em células pré-B para formar o receptor da célula pré-B. As duas cadeias leves substitutas incluem a proteína V pré-B, a qual é homóloga ao domínio V da cadeia leve, e λ5, a qual é ligada covalentemente à cadeia pesada μ por uma ponte dissulfeto.

Calcineurina Serina/treonina fosfatase citoplasmática que desfosforila o fator de transcrição NFAT, permitindo assim que o NFAT entre no núcleo. A calcineurina é ativada por sinais de cálcio gerados por meio da sinalização do TCR em resposta ao reconhecimento antigênico, e as drogas imunossupressoras ciclosporina e FK506 atuam bloqueando a atividade da calcineurina.

Camundongo *knockout* Camundongo com uma disrupção direcionada de um ou mais genes que é criado por técnicas de recombinação homóloga. Os camundongos *knockout* que perdem genes funcionais que codificam citocinas, receptores de superfície celular, moléculas de sinalização e fatores de transcrição têm fornecido vastas informações acerca do papel dessas moléculas no sistema imune.

Camundongo *nude* Linhagem de camundongos em que não ocorre o desenvolvimento do timo e consequentemente dos linfócitos T, bem como dos folículos capilares. Os camundongos *nude* têm sido utilizados experimentalmente para definir o papel dos linfócitos T na imunidade e na doença.

Camundongo SCID Linhagem de camundongo na qual as células B e T estão ausentes em decorrência de um bloqueio precoce na maturação dos precursores da medula óssea. Os camundongos SCID carregam uma mutação em um componente da enzima proteína quinase dependente de DNA, a qual é necessária para o reparo de quebras do DNA de dupla fita. A deficiência dessa enzima resulta em ligação anormal dos segmentos gênicos de Ig e TCR durante a recombinação e, consequentemente, falha na expressão dos receptores antigênicos.

Camundongo transgênico Camundongo que expressa um gene exógeno que foi introduzido no genoma pela injeção de uma sequência específica de DNA no prónúcleo de ovos fertilizados do camundongo. Os transgenes se inserem aleatoriamente em pontos de quebra cromossomal e são subsequentemente herdados como traços mendelianos simples. Por meio do desenho de transgenes com sequências reguladoras tecido-específicas, os camundongos podem ser produzidos de modo a expressar um gene em particular somente em alguns tecidos. Os camundongos transgênicos são extensamente utilizados na pesquisa imunológica para estudar as funções de várias citocinas, moléculas de superfície celular e moléculas de sinalização intracelular.

Camundongo transgênico para o receptor de célula T (TCR, do inglês, *T cell receptor*) Camundongo de uma linhagem geneticamente modificada que expressa genes α e β funcionais do TCR, codificados transgenicamente, que produzem um TCR de especificidade única e definida. Em decorrência da exclusão alélica dos genes de TCR endógenos, a maioria ou todas as células T em um camundongo transgênico para o TCR possuem a mesma especificidade antigênica, a qual é uma propriedade útil para diversos objetivos de pesquisa.

Cascata de proteína quinase ativada por mitógeno (MAP, do inglês, *mitogen-activated protein*) Cascata de transdução do sinal iniciada pela forma ativa da proteína Ras envolvendo a ativação sequencial de três serina/treonina quinases, sendo a última uma MAP quinase. A MAP quinase então fosforila e ativa outras enzimas e fatores de transcrição. A via da MAP quinase é uma de várias vias de sinalização ativadas pela ligação do antígeno ao TCR e ao BCR.

Caspases Proteases intracelulares com cisteínas em seus sítios ativos que quebram substratos na porção C-terminal dos resíduos de ácido aspártico. A maioria é componente de cascatas enzimáticas que causam morte apoptótica das células, mas a caspase-1, a qual é parte do inflamassomo, direciona a inflamação processando as formas inativas de precursores das citocinas IL-1 e IL-18 em suas formas ativas.

Catelicidinas Polipeptídeos produzidos pelos neutrófilos e diversas barreiras epiteliais que atuam em diversas funções na imunidade inata, incluindo toxicidade direta aos microrganismos, ativação de leucócitos e neutralização de lipopolissacarídeo.

Catepsinas Tiol e aspartil proteases com ampla especificidade de substratos, as quais são abundantes nos endossomas das APCs e possuem importante papel na geração de fragmentos peptídicos a partir de proteínas antigênicas exógenas que se ligam às moléculas do MHC de classe II.

Célula apresentadora de antígeno (APC, do inglês, *antigen-presenting cell*) Célula que expõe fragmentos peptídicos de antígenos proteicos em associação a moléculas de MHC na sua superfície e ativa células T antígeno-específicas. Além da exposição de complexos peptídeo-MHC, as APCs também expressam moléculas coestimuladoras para otimizar a ativação dos linfócitos T.

Célula B madura Células B *naive*, funcionalmente competentes, expressando IgM e IgD, que representam o estágio final da maturação da célula B na medula óssea e povoam os órgãos linfoides periféricos.

Célula pré-B Célula B em desenvolvimento presente somente em tecidos hematopoéticos, que é o estágio de maturação caracterizado pela expressão da cadeia pesada μ de Ig citoplasmática e substitui as cadeias leves, mas não as cadeias leves de Ig. Os receptores de célula pré-B compostos de cadeias μ e cadeias leves substitutas liberam sinais que estimulam a maturação da célula pré-B em uma célula B imatura.

Célula pré-T Linfócito T em desenvolvimento no timo em estágio de maturação caracterizado pela expressão da cadeia β do TCR, mas não da cadeia α, de CD4 ou de CD8. Nas células pré-T, a cadeia β do TCR é encontrada na superfície celular como parte do receptor da célula pré-T.

Célula pró-B Célula B em desenvolvimento na medula óssea que é a primeira célula comprometida com a linhagem de linfócito B. As células pró-B não produzem Ig, mas podem ser distinguidas de outras células imaturas pela expressão de moléculas de superfície restritas à linhagem B, tais como CD19 e CD10.

Célula pró-T Célula T em desenvolvimento no córtex tímico que acabou de chegar da medula óssea e não expressa TCRs, CD3, cadeias ζ, ou moléculas CD4 ou CD8. As células pró-T também são denominadas de timócitos duplo-negativos.

Célula secretora de anticorpo Linfócito B que passou por diferenciação e produz a forma secretória de Ig. As células secretoras de anticorpo são geradas a partir de células B *naive* em resposta ao antígeno e residem no baço e nos linfonodos, bem como na medula óssea. Frequentemente usado como sinônimo de plasmócito.

Célula T auxiliar folicular (Tfh) Ver **células T auxiliares foliculares (Tfh)**.

Células apresentadoras de antígenos profissionais (APCs profissionais) Termo utilizado algumas vezes para se referir às APCs que ativam linfócitos T; inclui células dendríticas, fagócitos mononucleares e linfócitos B, todos os quais são capazes de expressar moléculas do MHC de classe II e coestimuladores. As APCs profissionais mais importantes para o início das respostas primárias de célula T são as células dendríticas.

Células de Langerhans Células dendríticas imaturas encontradas como uma malha na camada epidermal da pele e cuja principal função é sequestrar microrganismos e antígenos que entram através da pele e transportar antígenos para os linfonodos drenantes. Durante sua migração para os linfonodos, as células de Langerhans se diferenciam em células dendríticas maduras, as quais apresentam antígenos eficientemente para células T *naive*.

Células dendríticas Células derivadas da medula óssea encontradas em tecidos epiteliais e linfoides que são morfologicamente caracterizadas por finas projeções de membrana. Existem muitos subgrupos de células dendríticas com funções variadas. As células dendríticas clássicas atuam como células de sentinela inatas, tornam-se APCs para linfócitos T *naive* após ativação e são importantes para iniciar as respostas imunes adaptativas a antígeno proteico. Células dendríticas clássicas imaturas (em repouso) são importantes para a indução da tolerância aos antígenos próprios. As células dendríticas plasmacitoides produzem abundantes interferons do tipo I em resposta a exposição aos vírus.

Células dendríticas foliculares (FDCs, do inglês, *folicular dendritic cells*) Células nos folículos linfoides dos órgãos linfoides secundários que expressam receptores do complemento e receptores Fc, possuindo longos processos citoplasmáticos que formam uma malha integral da arquitetura dos folículos. As células dendríticas foliculares expõem antígenos em suas superfícies para o reconhecimento da célula B e estão envolvidas na ativação e seleção das células B que expressam Ig de membrana de alta afinidade durante o processo de maturação da afinidade. Elas são células não hematopoiéticas (não originadas na medula óssea).

Células efetoras Células que realizam funções efetoras durante uma resposta imune, tais como secreção de citocinas (p. ex.: células T auxiliares), morte de micror-ganismos (p. ex.: macrófagos), morte de células do hospedeiro infectadas com microrganismos (p. ex.: CTLs) ou secretando anticorpos (p. ex.: células B diferenciadas).

Células epiteliais tímicas Células epiteliais abundantes no estroma cortical e medular do timo que têm papel crítico no desenvolvimento da célula T. No processo de seleção positiva, as células T em maturação que reconhecem fracamente os peptídeos próprios ligados às moléculas do MHC na superfície das células epiteliais tímicas são recuperadas da morte celular programada.

Células indutoras de tecido linfoide Tipo celular hematopoiético derivado de célula linfoide inata que estimula o desenvolvimento de linfonodos e outros órgãos linfoides secundários, em parte através da produção das citocinas linfotoxina-α (LTα) e linfotoxina-β (LTβ).

Células LAK (LAK, do inglês, *lymphokine-activated killer*[células assassinas ativadas por linfocina]) Células NK com atividade citolítica aumentada para células tumorais como resultado da exposição a elevadas doses de IL-2. Células LAK geradas *in vitro* têm sido adotivamente transferidas de volta a pacientes com câncer para tratar seus tumores.

Células linfoides inatas (ILCs, do inglês, *innate lymphoid cells*) Células que surgem a partir do progenitor linfoide comum na medula óssea, as quais possuem morfologia de linfócitos e realizam funções efetoras semelhantes às de células T, mas não expressam TCRs. Células *natural killer* são um tipo de ILC com funções semelhantes aos linfócitos T citotóxicos. Três subpopulações de células linfoides inatas auxiliares, chamadas ILC1, ILC2 e ILC3, produzem citocinas e expressam diferentes fatores de transcrição, análogos às subpopulações Th1, Th2 e Th17 de linfócitos T $CD4^+$ efetores.

Células M Células especializadas da mucosa epitelial gas-- trintestinal que recobrem as placas de Peyer no intestino e atuam na liberação de antígenos para as placas de Peyer.

Células NK (NK, do inglês, *natural killer* [assassinas naturais]) Subconjunto de células linfoides inatas que atuam nas respostas imunes inatas para matar células infectadas por microrganismos por meio de mecanismos líticos diretos e pela secreção de IFN-γ. Células NK não expressam receptores de antígenos clonalmente distribuídos do tipo Ig ou TCRs e sua ativação é regulada por uma combinação de receptores estimuladores e inibitórios de superfície celular, estes últimos reconhecendo as moléculas de MHC próprias.

Células supressoras mieloide-derivadas Grupo heterogêneo de precursores mieloides imaturos que suprimem as respostas imunes antitumorais e são encontrados em tecidos linfoides, sangue ou tumores de animais com tumor ou pacientes com câncer. As células expressam Ly6C ou Ly6G e CD11b em camundongos e CD33, CD11b e CD15 em humanos.

Células T auxiliares Classe de linfócitos T cujas funções principais são ativar macrófagos e promover inflamação em respostas imunes mediadas por células e promover a produção de anticorpo por células B nas respostas imunes humorais. Essas funções são mediadas por citocinas secretadas e pela ligação do ligante de CD40 da célula T ao CD40 do macrófago ou da célula B. A maioria das células T auxiliares expressa a molécula CD4.

Células T auxiliares foliculares (Tfh, do inglês, *T follicular helper*) Subgrupo heterogêneo de células T auxiliares $CD4^+$ presentes nos folículos linfoides e que são cruciais para fornecer sinais para as células B na reação do centro germinativo que estimula a hipermutação somática, a troca de isotipo e a geração de células B de memória e plasmócitos de vida longa. As células Tfh expressam CXCR5, ICOS, IL-21 e Bcl-6.

Células T invariantes associadas à mucosa (MAIT) Subpopulação de células T que expressa um TCR $\alpha\beta$ invariante específico para metabólitos de riboflavina fúngicos e bacterianos apresentados por uma molécula não polimórfica relacionada ao MHC de classe I. A maior parte das células MAIT são $CD8^+$, são ativadas tanto por derivados de riboflavina microbiana quanto por citocinas e possuem funções inflamatórias e citotóxicas. As células MAIT correspondem a aproximadamente 50% de todas as células T no fígado humano.

Células T *natural killer* (células NKT, do inglês, *natural killer T cells* [células T assassinas naturais]) Subgrupo numericamente pequeno de linfócitos que expressam receptores de células T e algumas moléculas de superfície características de células NK. Algumas células NKT, chamadas NKT invariantes (iNKT), expressam receptores de antígenos $\alpha\beta$ da célula T com diversidade muito pequena e reconhecem antígenos lipídicos apresentados pelas moléculas CD1. As funções fisiológicas das células NKT não estão bem definidas.

Células T reguladoras População de células T que inibe a ativação de outras células T e é necessária para manter a tolerância periférica aos antígenos próprios. A maioria das células T reguladoras é $CD4^+$ e expressa a cadeia α do receptor de IL-2 (CD25), CTLA-4 e o fator de transcrição FoxP3.

Células T supressoras Células T que bloqueiam a ativação e função de outros linfócitos T. Tem sido difícil identificar claramente as células T supressoras e o termo não é atualmente amplamente

utilizado. As células T mais bem definidas que atuam no controle das respostas imunes são as **células T reguladoras**.

Células Th1 Subgrupo de células T auxiliares $CD4^+$ que secretam um grupo particular de citocinas, incluindo IFN-γ, cuja função principal é estimular a defesa contra infecções mediada pelo fagócito, especialmente com microrganismos intracelulares.

Células Th17 Subgrupo de células T auxiliares $CD4^+$ que secretam um grupo particular de citocinas, incluindo IL-17 e IL-22, que são protetoras contra infecções bacterianas e fúngicas e também medeiam reações inflamatórias nas doenças autoimunes e outras doenças inflamatórias.

Células Th2 Subgrupo de células T auxiliares $CD4^+$ que secretam um grupo particular de citocinas, incluindo IL-4, IL-5 e IL-3, cuja função principal é estimular reações imunes mediadas por IgE e por eosinófilo/mastócito.

Célula-tronco Célula não diferenciada que se divide continuamente e origina células-tronco adicionais e células de diferentes linhagens. Por exemplo, todas as células sanguíneas originam-se de uma célula-tronco hematopoiética comum.

Célula-tronco hematopoiética Célula indiferenciada da medula óssea que se divide continuamente e origina células-tronco adicionais e células de diferentes e múltiplas linhagens. A célula-tronco hematopoiética na medula óssea originará as células das linhagens linfoide, mieloide e eritrocítica.

Centroblastos Células B em rápida proliferação na zona escura dos centros germinativos dos tecidos linfoides secundários, as quais dão origem a milhares de descendentes, expressam desaminase induzida por ativação (AID) e passam por mutação somática de seus genes *V*. Os centroblastos tornam-se centrócitos da zona clara dos centros germinativos.

Centrócitos Células B na zona clara dos centros germinativos dos órgãos linfoides secundários, as quais são os descendentes dos centroblastos em proliferação da zona escura. Os centrócitos que

expressam Ig de alta afinidade são selecionados positivamente para sobreviver e passam por troca de isotipo e sofrem diferenciação adicional em plasmócitos de vida longa e células B de memória.

Centros germinativos Estruturas especializadas nos órgãos linfoides geradas durante as respostas imunes humorais T-dependentes, onde acontece extensa proliferação de célula B, troca de isotipo, mutação somática, maturação de afinidade, geração de célula B de memória e indução de plasmócitos de vida longa. Os centros germinativos surgem como regiões levemente coradas dentro de um folículo linfoide no baço, linfonodo e tecido linfoide de mucosa.

Choque séptico Grave complicação de infecções bacterianas que se espalha pela corrente sanguínea (sepse) e é caracterizada por colapso vascular, coagulação intravascular disseminada e distúrbios metabólicos. Essa síndrome é atribuída aos efeitos dos componentes da parede celular bacteriana, tais como LPS ou peptidoglicano, que se ligam aos TLRs nos vários tipos celulares e induzem a expressão de citocinas inflamatórias, incluindo TNF e IL-12.

Ciclosporina Inibidor da calcineurina amplamente utilizado como uma droga imunossupressora para prevenir a rejeição do aloenxerto mediante bloqueio da ativação da célula T. A ciclosporina (também chamada de ciclosporina A) liga-se a uma proteína citosólica denominada ciclofilina, e complexos ciclosporina-ciclofilina ligam-se e inibem a calcineurina, inibindo assim a ativação e a translocação nuclear do fator de transcrição NFAT.

Citocinas Proteínas que são produzidas e secretadas por diferentes tipos celulares e medeiam reações inflamatórias e imunes. As citocinas são os principais mediadores de comunicação entre células do sistema imune (ver Apêndice I).

Citometria de fluxo Método de análise do fenótipo de populações celulares que requer um instrumento especializado (citômetro de

fluxo) que pode detectar fluorescência em células individuais em suspensão e, desse modo, determina o número de células expressando a molécula na qual a sonda fluorescente se liga, assim como a quantidade relativa de molécula expressa. Suspensões de células são incubadas com anticorpos marcados com fluorescências ou outras sondas e a quantidade da sonda ligada a cada célula na população é avaliada pela passagem das células individualmente por um fluorímetro, utilizando um feixe de laser incidente.

Citotoxicidade celular dependente de anticorpo (CCDA) Processo pelo qual células NK são dirigidas para células recobertas por IgG, resultando na lise das células recobertas pelo anticorpo. Um receptor específico para a região constante da IgG, chamado de FcγRIII (CD16), é expresso na membrana celular da célula NK e medeia a ligação à IgG.

Clone Grupo de células, derivadas de um precursor comum único, o qual mantém muitas das características genotípicas e fenotípicas compartilhadas pela célula de origem. Na imunidade adaptativa, todos os membros de um clone de linfócitos compartilham os mesmos genes únicos de *Ig V* ou *TCR* clonalmente recombinados, embora o rearranjo dos genes *Ig V* de diferentes células a partir de um clone de células B possa variar em sequência, devido à hipermutação somática que ocorre após a recombinação VDJ.

Coestimulador Molécula expressa na superfície das APCs em resposta aos estímulos imunes inatos, os quais fornecem um estímulo, em adição ao antígeno (o "segundo sinal"), necessário para a ativação das células T *naive*. Os coestimuladores mais bem definidos são as moléculas B7 (CD80 e CD86) nas APCs que se ligam ao receptor CD28 nas células T. Outros coestimuladores se ligam a receptores que são expressos nas células T ativadas, levando a respostas efetoras aumentadas.

Coinibidor Proteína da superfície celular expressa pelas células apresentadoras de antígenos ou células teciduais que se liga aos receptores coinibitórios nas células T efetoras, induzindo sinais que bloqueiam a ativação da célula T pelo antígeno e

coestimuladores. Um exemplo é o PD-L1, um coinibidor expresso em vários tipos celulares, o qual se liga ao PD-1 nas células T efetoras. A via PD-LI/PD-1 tem sido alvo terapêutico para aumentar as respostas antitumorais e antivirais da célula T.

Colectinas Família de proteínas, incluindo a lectina ligante de manose, caracterizada por um domínio do tipo colágeno e um domínio lectina (i.e., ligante de carboidrato). As colectinas possuem um papel no sistema imune inato atuando como receptores de reconhecimento de padrão microbiano e podem ativar o sistema complemento pela ligação a C1q.

Complemento Sistema de proteínas séricas e de superfície celular que interagem umas com as outras e com outras moléculas do sistema imune para gerar importantes efetores das respostas imunes inata e adaptativa. As vias clássica, alternativa e da lectina do sistema complemento são ativadas por complexos antígeno-anticorpo, superfícies microbianas e ligação de lectinas plasmáticas aos microrganismos, respectivamente, consistindo de uma cascata de enzimas proteolíticas que geram mediadores inflamatórios e opsoninas. Todas as três vias levam à formação de um complexo lítico terminal comum na célula que é inserido nas membranas celulares.

Complexo de ataque à membrana (MAC, do inglês, *membrane attack complex*) Complexo lítico de componentes terminais da cascata do complemento, incluindo as proteínas do complemento C5, C6, C7, C8 e múltiplas cópias de C9, o qual se forma nas membranas das células-alvo. O MAC causa alterações iônicas e osmóticas letais nas células.

Complexo principal de histocompatibilidade (MHC, do inglês, *major histocompatibility complex*) Extenso *locus* gênico (no cromossomo 6 humano e cromossomo 17 murino) que inclui os genes altamente polimórficos que codificam moléculas ligantes de peptídeos reconhecidas pelos linfócitos T. O *locus* do MHC também inclui genes que codificam citocinas, moléculas envolvidas no processamento de antígeno e proteínas do complemento.

Complexo receptor da célula B (complexo BCR) Complexo multiproteico expresso na superfície dos linfócitos B que reconhece o antígeno e transduz os sinais de ativação para o interior da célula. O complexo BCR inclui a Ig de membrana, responsável pela ligação ao antígeno, e proteínas Igα e Igβ, as quais iniciam os eventos de sinalização.

Componente secretório Porção proteoliticamente clivada do domínio extracelular do receptor poli-Ig que permanece ligado a uma molécula de IgA nas secreções mucosas.

Correceptor Receptor da superfície do linfócito que se liga ao antígeno ao mesmo tempo em que a Ig ou o TCR de membrana se ligam ao antígeno e libera sinais necessários para uma ótima ativação do linfócito. CD4 e CD8 são correceptores de célula T que se ligam a porções não polimórficas de uma molécula de MHC concomitantemente à ligação do TCR aos resíduos polimórficos do MHC e ao peptídeo exposto. CR2 é um correceptor nas células B que se liga aos antígenos recoberto pelo complemento ao mesmo tempo que a Ig de membrana se liga a outra porção do antígeno.

CTLA-4 Proteína da superfamília de Ig expressa na superfície de células T efetoras ativadas e Treg, a qual se liga com alta afinidade a B7-1 e B7-2 e possui papel essencial na inibição das respostas da célula T. CTLA-4 é essencial para a função da Treg e tolerância da célula T aos autoantígenos.

Dectinas Receptores de reconhecimento de padrão expressos nas células dendríticas que reconhecem carboidratos da parede celular fúngica e induzem eventos de sinalização que promovem inflamação e aumentam as respostas imunes adaptativas.

Defensinas Peptídeos ricos em cisteína produzidos pelas células da barreira epitelial na pele, no intestino, no pulmão e outros tecidos e nos grânulos de neutrófilos, que atuam como antibióticos de largo espectro para matar uma grande variedade de bactérias e fungos. A síntese das defensinas é aumentada em resposta a estimulação de receptores do sistema imune inato, tais como

receptores do tipo *Toll*, e citocinas inflamatórias, tais como IL-1 e TNF.

Deficiência de adesão leucocitária (LAD, do inglês, *leukocyte adhesion deficiency*) Doença de um raro grupo de imunodeficiência com complicações infecciosas, causada pela expressão defeituosa de moléculas de adesão leucocitárias necessárias para o recrutamento de fagócitos e linfócitos para o tecido. A LAD-1 é decorrente de mutações no gene que codifica a proteína CD18, o qual é parte das β_2-integrinas. A LAD-2 é causada por mutações em um gene que codifica um transportador de fucose envolvido na síntese de ligantes de leucócitos para selectinas endoteliais.

Deficiência seletiva de imunoglobulina Imunodeficiências caracterizadas pela ausência de somente uma ou de poucas classes ou subclasses de Ig. A deficiência de IgA é a deficiência seletiva de Ig mais comum, seguida pelas deficiências de IgG3 e IgG2. Pacientes com esses distúrbios podem correr risco aumentado de contrair infecções bacterianas, porém muitos são normais.

Deleção clonal Mecanismo de tolerância de linfócitos no qual uma célula T imatura no timo ou uma célula B imatura na medula óssea sofre morte apoptótica como consequência do reconhecimento de um autoantígeno.

Desaminase induzida por ativação (citidina) (AID, do inglês, *activation-induced deaminase*) Enzima expressa nas células B que catalisa a conversão de citosina em uracil no DNA, um passo necessário para a hipermutação somática e a maturação de afinidade dos anticorpos e para a troca de classe de Ig.

Dessensibilização Método de tratamento da doença de hipersensibilidade imediata (alergias) que envolve a administração repetida de baixas doses de um antígeno ao qual os indivíduos são alérgicos. Esse processo frequentemente previne reações alérgicas graves em exposições ambientais subsequentes ao antígeno, mas os mecanismos não são bem compreendidos.

Desvio imunológico Conversão de uma resposta de célula T associada a um grupo de citocinas, tais como as citocinas Th1 que estimulam funções inflamatórias de macrófagos, para uma resposta associada a outras citocinas, tais como as citocinas Th2, que ativam eosinófilos e funções anti-inflamatórias de macrófagos.

Determinante Porção específica de um antígeno macromolecular no qual um anticorpo ou o receptor da célula T se liga. No caso de um antígeno proteico reconhecido por uma célula T, o determinante é a porção do peptídeo que se liga a uma molécula de MHC para o reconhecimento pelo TCR. Sinônimo de **epítopo**.

Diabetes *mellitus* tipo 1 Doença caracterizada pela falta de insulina e que causa várias anormalidades metabólicas e vasculares. A deficiência de insulina resulta da destruição autoimune das células β produtoras de insulina nas ilhotas de Langerhans no pâncreas, normalmente durante a infância. Células T $CD4^+$ e $CD8^+$, anticorpos e citocinas têm sido implicados no dano celular à ilhota. Também denominada diabetes *mellitus* insulino-dependente.

Diacilglicerol (DAG, do inglês, *diacylglycerol*) Molécula de sinalização gerada pela hidrólise de fosfatidilinositol 4,5-bifosfato (PIP_2) mediada pela fosfolipase C (PLCγ1) durante a ativação de linfócitos pelo antígeno. A principal função do DAG é ativar uma enzima chamada proteína quinase C, que participa da geração de fatores de transcrição ativos.

Diversidade Existência de um grande número de linfócitos com diferentes especificidades antigênicas em qualquer indivíduo. A diversidade é uma propriedade fundamental do sistema imune adaptativo e é o resultado da variabilidade nas estruturas dos sítios de ligação ao antígeno dos receptores de linfócitos (anticorpos e TCRs).

Diversidade combinatória Diversidade das especificidades de Ig e de TCR geradas pelo uso de diferentes combinações entre

diversos segmentos variável, de diversidade e juncional durante durante a recombinação somática do DNA no *loci* de Ig e TCR nas células B e T em desenvolvimento. A diversidade combinatória é um mecanismo que trabalha conjuntamente com a diversidade juncional, para a geração de um grande número de diferentes genes de receptores antigênicos a partir de um número limitado de segmentos gênicos de DNA.

Diversidade juncional Diversidade no repertório de anticorpos e de TCR atribuída à adição ou remoção aleatória de sequências de nucleotídeos nas junções entre os segmentos gênicos V, D e J.

Doença autoimune Doença causada pela quebra da autotolerância de tal forma que o sistema imune adaptativo responde aos autoantígenos e medeia lesão celular e tecidual. As doenças autoimunes podem ser causadas pelo ataque imune contra um órgão ou tecido (p. ex.: esclerose múltipla, tireoidite ou diabetes tipo 1) ou contra antígenos múltiplos e distribuídos sistemicamente (p. ex.: lúpus eritematoso sistêmico).

Doença do enxerto *versus* hospedeiro Doença que ocorre nos receptores de transplantes de medula óssea causada pela reação de células T maduras na medula transplantada com aloantígenos nas células do hospedeiro. A doença afeta mais frequentemente a pele, o fígado e os intestinos.

Doença do imunocomplexo Doença inflamatória causada pela deposição de complexos antígeno-anticorpo nas paredes dos vasos sanguíneos, resultando na ativação local do complemento e inflamação. Os imunocomplexos podem se formar em decorrência da superprodução de anticorpos contra antígenos microbianos ou como resultado da produção de autoanticorpos no contexto de uma doença autoimune, tal como o lúpus eritematoso sistêmico. A deposição de imunocomplexos nas membranas basais de capilares especializados dos glomérulos renal podem causar glomerulonefrite e prejudicar a função renal. A deposição sistêmica de imunocomplexos nas paredes arteriais pode causar vasculite, com trombose e lesão isquêmica em vários órgãos.

Doença do soro Doença causada pela injeção de altas doses de um antígeno proteico no sangue e caracterizada pela deposição de complexos antígeno-anticorpo (imunes) nas paredes dos vasos sanguíneos, especialmente nos rins e nas articulações. A deposição dos imunocomplexos leva a fixação do complemento e recrutamento de leucócitos e, subsequentemente, a glomerulonefrite e artrite. A doença do soro foi originalmente descrita como um distúrbio que ocorre em pacientes que receberam injeções de soro contendo anticorpos antitoxina para prevenir a difteria.

Doença granulomatosa crônica Rara doença de imunodeficiência herdada, causada por mutações nos genes que codificam componentes do complexo enzimático oxidase dos fagócitos, necessária para a morte de microrganismos por leucócitos polimorfonucleares e macrófagos. A doença é caracterizada por infecções intracelulares recorrentes bacterianas e fúngicas, frequentemente acompanhadas por respostas imunes crônicas mediadas por células e formação de granulomas.

Doenças de hipersensibilidade Distúrbios causados por respostas imunes. As doenças de hipersensibilidade incluem doenças autoimunes, nas quais as respostas imunes são direcionadas contra autoantígenos, e doenças que resultam de respostas descontroladas ou excessivas contra antígenos estranhos, como microrganismos e alérgenos. O dano tecidual que ocorre nas doenças de hipersensibilidade é decorrente dos mesmos mecanismos efetores usados pelo sistema imune para proteção contra microrganismos.

Domínio de imunoglobulina Motivo estrutural globular tridimensional encontrado em muitas proteínas no sistema imune, incluindo Igs, TCRs e moléculas do MHC. Os domínios de Ig possuem cerca de 110 resíduos de aminoácidos em extensão, incluem uma ponte dissulfeto interna e contém duas camadas de folhas β-pregueadas, cada camada composta de três a cinco fitas de cadeias polipeptídicas antiparalelas. Os domínios de Ig são

classificados como tipo V ou tipo C, com base na maior proximidade de homologia aos domínios V ou C de Ig.

Domínio Src homologia 2 (SH2, do inglês *Src homology 2*) Estrutura de domínio tridimensional com aproximadamente 100 resíduos de aminoácidos presente em diversas proteínas de sinalização, que permite interações não covalentes específicas com outras proteínas pela ligação a fosfotirosinas. Cada domínio SH2 possui uma especificidade de ligação única determinada pelos resíduos de aminoácidos adjacentes à fosfotirosina na proteína-alvo. Várias proteínas envolvidas nos eventos iniciais de sinalização nos linfócitos T e B interagem umas com as outras pelos domínios SH2.

Domínio Src homologia 3 (SH3, do inglês, *Src homology 3*) Estrutura de domínio tridimensional com aproximadamente 60 resíduos de aminoácidos presente em diversas proteínas de sinalização que medeia ligações proteína-proteína. Os domínios SH3 ligam-se a resíduos de prolina e atual de maneira conjunta com os domínios SH2 da mesma proteína. Por exemplo, SOS, o fator de troca do nucleotídeo guanina para Ras, contém tanto domínios SH2 quanto SH3, e ambos estão envolvidos na ligação de SOS à proteína adaptadora Grb-2.

Ectoparasitas Parasitas que vivem na superfície de um animal, tais como carrapatos e ácaros. Tanto o sistema imune inato quando o adaptativo podem ter papel na proteção contra ectoparasitas, frequentemente pela destruição dos estágios larvais destes organismos.

Edição do receptor Processo pelo qual algumas células B imaturas que reconhecem os antígenos próprios na medula óssea podem ser induzidas a alterar suas especificidades de Ig. A edição do receptor envolve a reativação dos genes *RAG*, recombinações adicionais VJ de cadeia leve e produção de nova cadeia leve de Ig, que permite à célula expressar um receptor Ig diferente que não é autorreativo.

Encefalomielite autoimune experimental (EAE) Modelo animal de esclerose múltipla, uma doença autoimune desmielinizante do

sistema nervoso central. A EAE é induzida em roedores pela imunização com componentes da bainha de mielina (p. ex.: proteína básica da mielina) dos nervos, misturados a um adjuvante. A doença é mediada em grande parte por células T $CD4^+$ secretoras de citocinas específicas para as proteínas da bainha de mielina.

Endossomo Vesícula intracelular ligada à membrana na qual proteínas extracelulares são internalizadas durante o processamento do antígeno. Os endossomos possuem um pH ácido e contêm enzimas proteolíticas que degradam proteínas em peptídeos que se ligam às moléculas do MHC de classe II. Um subgrupo de endossomos ricos em MHC de classe II, chamado MIIC, tem um papel especial no processamento e apresentação de antígenos pela via de classe II. (Endossomos são encontrados em todas as células e participam de eventos de internalização que não estão ligados a apresentação de antígenos.)

Endotoxina Componente da parede celular de bactérias Gram-negativas, também chamado de **lipopolissacarídeo** (LPS), que é liberado pelas bactérias em processo de morte e estimula as respostas inflamatórias imunes inatas pela ligação a TLR4 em diferentes tipos celulares, incluindo fagócitos, células endoteliais, células dendríticas e células da barreira epitelial. A endotoxina contém tanto componentes lipídicos quanto porções de carboidrato (polissacarídeo).

Ensaio imunossorvente ligado à enzima (ELISA, do inglês, *enzyme-linked immunosorbent assay*) Método de quantificação de um antígeno imobilizado em uma superfície sólida pelo uso de um anticorpo específico acoplado covalentemente a uma enzima. A quantidade de anticorpo que se liga ao antígeno é proporcional à quantidade de antígeno presente e é determinada espectofotometricamente pela avaliação da conversão de um substrato claro a um produto colorido pela enzima acoplada (ver Apêndice III).

Enteropatia inflamatória (EI) Grupo de distúrbios, incluindo a colite ulcerativa e a doença de Crohn, caracterizados por inflamação

crônica no trato gastrintestinal. A etiologia da EI não é conhecida, mas algumas evidências indicam que é causada pela regulação inadequada das respostas de célula T, provavelmente contra bactérias comensais intestinais. A EI desenvolve-se em camundongos *knockout* para o gene da IL-2, IL-10 ou cadeia α do TCR.

Enxerto Tecido ou órgão que é removido de um local e colocado em outro local, normalmente em um indivíduo diferente.

Enxerto alogênico Enxerto de um órgão ou tecido de um doador que é da mesma espécie, mas geneticamente não idêntico ao receptor (também chamado de aloenxerto).

Enxerto autólogo Enxerto de um tecido ou órgão no qual o doador e o receptor são o mesmo indivíduo. Enxertos autólogos de medula óssea e pele são realizados na clínica médica.

Enxerto singênico Enxerto de um doador que é geneticamente idêntico ao receptor. Os enxertos singênicos não são rejeitados.

Eosinófilo Granulócito derivado da medula óssea que é abundante nos infiltrados inflamatórios nas reações de fase tardia da hipersensibilidade imediata e contribui para muitos dos processos patológicos nas doenças alérgicas. Os eosinófilos são importantes na defesa contra parasitas extracelulares, incluindo helmintos.

Epítopo Porção específica de um antígeno macromolecular no qual um anticorpo ou o receptor da célula T se liga. No caso de um antígeno proteico reconhecido por uma célula T, um epítopo é a porção do peptídeo que se liga a uma molécula de MHC para o reconhecimento pelo TCR. Sinônimo de **determinante**.

Epítopo imunodominante O epítopo de um antígeno proteico que elicita a maioria das respostas em um indivíduo imunizado com a proteína nativa. Os epítopos imunodominantes correspondem aos peptídeos da proteína que são proteoliticamente gerados dentro das APCs, ligam-se mais avidamente às moléculas de MHC e são os mais prováveis estimuladores das células T.

Espalhamento de epítopos Na autoimunidade, o desenvolvimento de respostas imunes a múltiplos epítopos em uma doença imune originalmente dirigida a um único epítopo progride provavelmente em virtude de seguida quebra na tolerância e liberação de antígenos teciduais adicionais devido ao processo inflamatório estimulado pela resposta inicial.

Espécies reativas de oxigênio (ROS, do inglês, *reactive oxygen species*) Metabólitos do oxigênio altamente reativos, incluindo ânion superóxido, radical hidroxila e peróxido de hidrogênio, que são produzidos pelos fagócitos ativados. As espécies reativas do oxigênio são usadas pelos fagócitos para formar oxialetos que danificam a bactéria ingerida. Também podem ser liberados das células e promover respostas inflamatórias ou causar dano tecidual.

Especificidade Característica cardinal do sistema imune adaptativo, isto é, as respostas imunes são direcionadas para e capazes de distinguir entre antígenos distintos ou pequenas porções de antígenos macromoleculares. Essa especificidade fina é atribuída aos receptores de antígenos de linfócitos que podem se ligar a uma molécula, mas não a outra, mesmo intimamente relacionada.

Exclusão alélica Expressão exclusiva de somente um dos dois alelos herdados que codifica as cadeias pesada e leve de Ig e cadeias β do TCR. A exclusão alélica ocorre quando o produto proteico do *locus* de um receptor antigênico produtivamente recombinado em um cromossomo bloqueia o rearranjo do *locus* correspondente no outro cromossomo. Essa propriedade garante que cada linfócito expressará um único receptor antigênico e que todos os receptores antigênicos expressos por um clone de linfócito terão especificidade idêntica. Como a cadeia α do TCR não apresenta exclusão alélica, algumas células T expressam dois tipos diferentes de TCR.

Expansão clonal Aumento de aproximadamente 1.000 a 100 mil vezes no número de linfócitos específicos para um antígeno que resulta da estimulação antigênica e proliferação das células T e B

naive. A expansão clonal ocorre nos tecidos linfoides e é necessária para gerar linfócitos T efetores e plasmócitos antígeno-específicos suficientes para erradicar infecções, a partir de raros precursores *naive*.

$F(ab')_2$ Porção de uma molécula de Ig (produzida inicialmente pela proteólise de IgG) que inclui duas cadeias leves completas, mas somente o domínio variável, o primeiro domínio constante e a região da dobradiça das duas cadeias pesadas. Os fragmentos $F(ab')_2$ retêm a região bivalente de ligação ao antígeno inteira, mas não podem ligar o complemento ou os receptores Fc. São utilizadas em pesquisa e aplicações terapêuticas quando a ligação ao antígeno é desejada sem a ativação das funções efetoras do anticorpo.

Fab (fragmento de ligação ao antígeno, do inglês, *fragment, antigen-binding*) Porção de um anticorpo, produzida inicialmente pela proteólise de IgG, que inclui uma cadeia leve completa pareada com um fragmento de cadeia pesada contendo o domínio variável e somente o primeiro domínio constante. Os fragmentos Fab, os quais podem ser gerados a partir de todos os anticorpos, retêm a capacidade de se ligar monovalentemente a um antígeno, mas não podem interagir com receptores Fc para IgG nas células ou com o complemento. Dessa maneira, as preparações de Fab são utilizadas em pesquisa e aplicações terapêuticas quando a ligação ao antígeno é desejada sem a ativação das funções efetoras. (O fragmento Fab' mantém a região da dobradiça da cadeia pesada.)

Fagócitos mononucleares Células de uma linhagem comum da medula óssea cuja função principal é a fagocitose. Essas células atuam como células acessórias nas fases de reconhecimento e ativação da resposta imune adaptativa e como células efetoras na imunidade inata e adaptativa. Os fagócitos mononucleares circulam no sangue em forma não completamente diferenciada denominada monócitos e, uma vez que atingem os tecidos, amadurecem em macrófagos.

Fagocitose Processo pelo qual certas células do sistema imune inato, incluindo macrófagos e neutrófilos, englobam grandes partículas (> 0,5 μm em diâmetro), tais como micróbios intactos. A célula circunda a partícula com extensões de sua membrana plasmática por meio de um processo dependente de energia e do citoesqueleto; esse processo resulta na formação de uma vesícula intracelular denominada fagossomo, a qual contém a partícula ingerida.

Fagossomo Vesícula intracelular ligada à membrana e que contém microrganismos ou material particulado ingeridos do ambiente extracelular. Os fagossomas são formados durante o processo de fagocitose. Eles se fundem a outras estruturas vesiculares, tais como lisossomos, levando à degradação enzimática do material ingerido.

Família dos receptores acoplados à proteína G Família diversa de receptores para hormônios, mediadores lipídicos inflamatórios e quimiocinas que usam proteínas G triméricas associadas para a sinalização intracelular.

Fas (CD95) Receptor de morte da família do receptor de TNF que é expresso na superfície das células T e muitos outros tipos celulares e inicia uma cascata de sinalização que leva a morte apoptótica da célula. A via de morte é iniciada quando o Fas se liga ao ligante de Fas expresso nas células T ativadas. A morte de linfócitos mediada pelo Fas é importante para a manutenção da autotolerância. Mutações no gene *FAS* causam doenças autoimunes sistêmicas (ver também **receptor de morte**).

Fase efetora Fase de uma resposta imune na qual um antígeno estranho é destruído ou inativado. Por exemplo, na resposta imune humoral, a fase efetora pode ser caracterizada pela ativação do complemento dependente de anticorpo e fagocitose de bactérias opsonizadas por anticorpo ou complemento.

Fator ativador de plaquetas (PAF, do inglês, *platelet-activating factor*) Mediador lipídico derivado de fosfolipídeos de membrana de vários tipos celulares, incluindo mastócitos e células

endoteliais. O PAF pode causar broncoconstrição, dilatação e extravasamento vascular, e também pode ser um importante mediador na asma.

Fator autócrino Molécula que atua na mesma célula que produz o fator. Por exemplo, a IL-2 é um fator autócrino de crescimento de células T que estimula a atividade mitótica da célula T que a produz.

Fator estimulador de colônia de granulócitos (G-CSF, do inglês, *granulocyte colony-stimulating factor*) Citocina produzida por células T ativadas, macrófagos e células endoteliais nos sítios de infecção que atua na medula óssea para aumentar a produção e mobilizar neutrófilos para substituir aqueles consumidos nas reações inflamatórias.

Fator estimulador de colônia de granulócitos e monócitos (GM-CSF, do inglês, *granulocyte-monocyte colony-stimulating factor*) Citocina produzida por células T ativadas, macrófagos, células endoteliais e fibroblastos estromais que atua na medula óssea para aumentar a produção de neutrófilos e monócitos. O GM-CSF também é um fator ativador de macrófagos e promove a maturação de células dendríticas.

Fator nuclear de células T ativadas (NFAT, do inglês, *nuclear factor of activated cells*) Fator de transcrição necessário para a expressão dos genes de IL-2, IL-4, TNF e de outras citocinas. Os quatro diferentes NFATs são codificados por genes separados; NFATp e NFATc são encontrados nas células T. NFAT citoplasmático é ativado por desfosforilação mediada por calcineurina, dependente de cálcio/calmodulina que permite ao NFAT translocar para o núcleo e se ligar às sequências consenso de ligação nas regiões reguladoras dos genes de IL-2, IL-4 e de outras citocinas, normalmente em associação com outros fatores de transcrição tais como AP-1.

Fator nuclear κB (NF-κB, do inglês, *nuclear factor κB*) Família de fatores de transcrição composta de proteínas homodímeros ou heterodímeros homólogos à proteína c-Rel. As proteínas NF-κB

são necessárias para a transcrição induzível de muitos genes importantes tanto nas respostas imunes inata quanto adaptativa.

Fator parácrino Molécula que atua nas células da proximidade à célula que produz o fator. A maioria das citocinas atua de maneira parácrina.

Fatores associados ao receptor de TNF (TRAFs, do inglês, *TNF receptor-associated factors*) Família de moléculas adaptadoras que interagem com os domínios citoplasmáticos de vários receptores na família do receptor de TNF, incluindo TNFRII, receptor de linfotoxina (LT)-β e CD40. Cada um desses receptores contém um motivo citoplasmático que liga diferentes TRAFs, que, por sua vez, envolve outras moléculas sinalizadoras, levando à ativação dos fatores de transcrição AP-1 e NF-κB.

Fatores estimuladores de colônias (CSFs, do inglês, *colony-stimulating factors*) Citocinas que promovem a expansão e diferenciação de células progenitoras da medula óssea. Os CSFs são essenciais para a maturação de hemácias, granulócitos, monócitos e linfócitos. Exemplos de CSFs incluem o fator estimulador de colônia de granulócitos e monócitos (GM-CSF), o fator estimulador de colônia de granulócitos (G-CSF) e a IL-3.

Fatores reguladores de interferon (IRFs, do inglês, *interferon regulatory factors*) Família de fatores de transcrição que são importantes na expressão de genes inflamatórios e antivirais. Por exemplo, o IFR3 é ativado por sinais do TLR e estimula a produção de interferons do tipo I, as quais são citocinas que protegem as células de infecção viral.

Fc (fragmento, cristalino, do inglês, *fragment, crystalline*) Região de uma molécula de anticorpo que pode ser isolada por proteólise de IgG e que contém somente as regiões carboxiterminais de duas cadeias pesadas ligadas por pontes dissulfeto. A região Fc das moléculas de Ig medeiam funções efetoras pela ligação a receptores da superfície celular ou a proteína C1q do complemento. (Fragmentos Fc são assim denominados porque eles tendem a cristalizar a partir de uma solução.)

FcεRI Receptor de alta afinidade para a região constante carboxiterminal das moléculas de IgE que é expresso em mastócitos, basófilos e eosinófilos. As moléculas FcεRI dos mastócitos normalmente são ocupadas pela IgE e ligações cruzadas desses complexos IgE-FcεRI pelos antígenos ativam os mastócitos e iniciam reações de hipersensibilidade imediata.

***Feedback* por anticorpo** Regulação negativa da produção de anticorpo pelos anticorpos IgG secretados, que ocorre quando complexos antígeno-anticorpo ligam simultaneamente a Ig de membrana da célula B e um tipo de receptor Fcγ (FcγRIIb). Sob essas condições, a cauda citoplasmática do FcγRIIb transduz sinais inibitórios para dentro da célula B.

Fenda de ligação ao peptídeo Porção de uma molécula de MHC que liga peptídeos para a exposição pelas células T. A fenda é composta de α-hélices pareadas repousando em um assoalho composto de até oito fitas de folhas β-pregueadas. Os resíduos polimórficos, que possuem aminoácidos que variam entre diferentes alelos do MHC, estão localizados na fenda e ao seu redor.

Ficolinas Proteínas plasmáticas hexaméricas do sistema imune inato, contendo domínios do tipo colágeno e domínios de reconhecimento de carboidratos do tipo fibrinogênio, os quais se ligam a componentes da parede celular de bactérias Gram-positivas, opsonizando-as e ativando o complemento.

Fitohemaglutinina (PHA, do inglês, *phytohemagglutinin*) Proteína ou lectina ligante de carboidratos, produzida por plantas que fazem ligação cruzada com moléculas de superfície da célula T humana, incluindo o receptor de célula T, induzindo, dessa forma, a ativação policlonal e aglutinação das células T. A PHA é frequentemente usada na imunologia experimental para estudar a ativação da célula T. Na medicina clínica, a PHA é utilizada para acessar o quanto as células T de um paciente são funcionais ou para induzir mitose da célula T com a finalidade de gerar dados cariotípicos.

FK506 Droga imunossupressora (também conhecido como tacrolimo) usado para prevenir a rejeição do aloenxerto que atua bloqueando a transcrição gênica de citocina pela célula T, de maneira semelhante à ciclosporina. O FK506 liga-se a uma proteína citosólica chamada proteína ligante de FK506 e o complexo resultante liga-se à calcineurina, inibindo, dessa maneira, a ativação e translocação nuclear do fator de transcrição NFAT.

Folículo Ver **folículo linfoide**.

Folículo linfoide Região do linfonodo ou do baço rica em célula B que é local de proliferação e diferenciação da célula B induzida por antígeno. Nas respostas de célula B dependente de célula T aos antígenos proteicos, um centro germinativo se forma dentro dos folículos.

Fosfatase (fosfatase proteica) Enzima que remove grupos fosfato das cadeias laterais de certos resíduos de aminoácidos de proteínas. As fosfatases proteicas nos linfócitos, tais como CD45 e calcineurina, regulam a atividade de várias moléculas de transdução de sinal e fatores de transcrição. Algumas fosfatases proteicas podem ser específicas para resíduos de fosfotirosina e outras para resíduos de fosfosserina e fosfotreonina.

Fosfolipase Cγ (PLCγ, do inglês, *phospholipase Cγ)* Enzima que catalisa a hidrólise do fosfolipídeo da membrana plasmática PIP_2 para gerar duas moléculas sinalizadoras, IP3 e DAG. A PLCγ torna-se ativada em linfócitos pela ligação do antígeno ao receptor antigênico.

FoxP3 Família de fatores de transcrição *forkhead* expressos pelas células T $CD4^+$ reguladoras e necessário para o desenvolvimento dessas células. Mutações no *FoxP3* em camundongos e humanos resultam na ausência das células T reguladoras $CD25^+$ e em doença autoimune multissistêmica.

Fragmento variável de cadeia simples Polipeptídeo simples geneticamente projetado que inclui domínios V de cadeia pesada

e de cadeia leve de Ig que se dobram para formar um sítio de ligação de anticorpo de especificidade conhecida, usado como reagente de pesquisa, ou como parte do antígeno de ligação tumoral de receptores antigênios quiméricos.

GATA-3 Fator de transcrição que promove a diferenciação de células Th2 a partir de células T *naive*.

Genes ativadores da recombinação 1 e 2 (*RAG1* e *RAG2*, do inglês, *recombination-activating genes 1 and 2*) Genes que codificam as proteínas RAG-1 e RAG-2, as quais formam a recombinase V(D)J e são expressas nas células B e T em desenvolvimento. As proteínas RAG ligam-se a sequências sinais de recombinação e são críticas para os eventos de recombinação de DNA que formam os genes de *Ig* e *TCR* funcionais. Dessa maneira, as proteínas RAG são necessárias para a expressão de receptores de antígenos e para a maturação de linfócitos B e T.

Genes de resposta imune (Ir, do inglês, *immune response*) Originalmente definidos como genes de linhagens de roedores congênitos que foram herdados de maneira mendeliana dominante e que controlavam a capacidade dos animais em produzir anticorpos contra polipeptídeos sintéticos simples. Sabemos agora que os genes de *Ir* são genes polimórficos que codificam moléculas do MHC de classe II, as quais expõem peptídeos aos linfócitos T e são, portanto, necessários para a ativação da célula T e para respostas de célula B (anticorpo) dependente da célula T auxiliar às proteínas antigênicas.

Glicoproteína de envelope (Env, do inglês, *envelope glycoprotein*) Glicoproteína de membrana codificada por um retrovírus que é expressa na membrana plasmática de células infectadas e na membrana derivada da célula do hospedeiro recoberta de partículas virais. As proteínas Env são frequentemente necessárias para a infectividade viral. As proteínas Env do HIV incluem gp41 e gp120, as quais se ligam ao CD4 e aos receptores de quimiocinas, respectivamente, nas células T humanas e medeiam a fusão das membranas viral e da célula T.

Glomerulonefrite Inflamação dos glomérulos renais, frequentemente iniciada por mecanismos imunopatológicos tais como a deposição de complexos antígeno-anticorpo circulantes na membrana basal glomerular ou a ligação de anticorpos a antígenos expressos no glomérulo. Os anticorpos podem ativar o complemento e os fagócitos e a resposta inflamatória resultante pode levar à falência renal.

GMP-AMP cíclico sintase Sensor citosólico de DNA que gera GMP-AMP cíclico como um segundo mensageiro e usa o adaptador STING para induzir a síntese de interferon do tipo I.

Golpe letal Termo usado para descrever os eventos que resultam no dano irreversível a uma célula-alvo quando a CTL se liga a ela. O golpe letal inclui a exocitose dos grânulos do CTL e a liberação dependente de perforina das enzimas indutoras de apoptose (granzimas) no citoplasma da célula-alvo.

Granuloma Nódulo de tecido inflamatório composto de agregados de macrófagos e linfócitos T, normalmente com fibrose associada. A inflamação granulomatosa é uma forma de hipersensibilidade do tipo retardada crônica, frequentemente em resposta a microrganismos persistentes, tais como *Mycobacterium tuberculosis* e alguns fungos, ou em resposta a antígenos particulados que não são prontamente fagocitados.

Granzima B Enzima serina protease encontrada nos grânulos de CTLs e células NK que é liberada por exocitose, entra nas células-alvo, quebra proteoliticamente as caspases ativando-as, as quais então clivam diversos substratos e induzem a apoptose da célula-alvo.

Haplótipo Grupo de alelos do MHC herdados de um dos pais e, dessa forma, em um cromossomo.

Hapteno Molécula pequena que pode se ligar a um anticorpo, mas deve estar ligada a uma macromolécula (carreador) para estimular uma resposta imune adaptativa específica para aquela molécula. Por exemplo, a imunização com dinitrofenol (DNP)

sozinho não estimula uma resposta de anticorpo contra DNP, mas a imunização com uma proteína contendo um hapteno DNP covalentemente ligado desencadeará a resposta.

Helminto Verme parasita. As infecções helmínticas frequentemente elicitam respostas imunes dependentes de Th2 caracterizadas por infiltrados inflamatórios ricos em eosinófilos e produção de IgE.

Hematopoiese Desenvolvimento de células sanguíneas maduras, incluindo eritrócitos, leucócitos e plaquetas, a partir de células-tronco pluripotentes na medula óssea e no fígado fetal. A hematopoiese é regulada por várias citocinas fatores de crescimento diferentes produzidos pelas células estromais da medula óssea, células T e outros tipos celulares.

Hibridoma Linhagem celular derivada pela fusão, ou hibridização celular somática, entre um linfócito normal e uma linhagem tumoral de linfócito imortalizada. Os hibridomas de célula B criados pela fusão de células B normais de especificidade antigênica definida com uma linhagem células de mieloma são usados para produzir anticorpos monoclonais. Os hibridomas de células T criados por fusão de uma célula T normal de especificidade definida com uma linhagem tumoral de célula T são comumente usados na pesquisa.

Hipermutação somática Mutações pontuais de alta frequência nas cadeias pesada e leve de Ig e que ocorrem nas células B do centro germinativo em resposta aos sinais das células Tfh. As mutações que resultam no aumento da afinidade dos anticorpos pelo antígeno fornecem uma vantagem seletiva na sobrevivência as células B que produzem aqueles anticorpos e levam a maturação de afinidade da resposta imune humoral.

Hipersensibilidade do tipo tardio (DTH, do inglês, *delayed-type hypersensitivity*) Reação imune na qual a ativação de macrófagos dependente de célula T e a inflamação causam lesão tecidual. Uma reação de DTH à injeção subcutânea de antígeno é frequentemente utilizada como um ensaio para a imunidade mediada por células (p. ex.: teste cutâneo com derivado de

proteína purificada para a imunidade a *Mycobacterium tuberculosis*).

Hipersensibilidade imediata Tipo de reação imune responsável pelas doenças alérgicas, a qual é dependente da ativação de mastócitos recobertos por IgE mediada pelo antígeno. Os mastócitos liberam mediadores que causam aumento da permeabilidade vascular, vasodilatação, contração da musculatura lisa brônquica e visceral e inflamação local.

Hipótese da seleção clonal Princípio fundamental do sistema imune (não mais uma hipótese) afirmando que cada indivíduo possui numerosos linfócitos clonalmente derivados, cada clone tendo surgido a partir de precursor único, que expressa um receptor de antígeno e é capaz de reconhecer e responder a um determinante antigênico distinto. Quando um antígeno entra, ele seleciona um clone preeexistente específico e o ativa.

Hipótese dos dois sinais Hipótese agora comprovada que afirma que a ativação dos linfócitos requere dois sinais distintos, o primeiro sendo o antígeno, e o segundo, produtos microbianos ou componentes das respostas imunes inatas aos microrganismos. A necessidade de estímulos adicionais (chamado sinal 1) garante que a resposta imune subsquente é específica. A necessidade de estímulos adicionais disparados pelos microrganismos ou pelas reações imunes inatas (sinal 2) garante que as respostas imunes são induzidas quando são necessárias, ou seja, contra microrganismos e outras substâncias nocivas e não contra substâncias inofensivas, incluindo os antígenos próprios. O sinal 2 é referido como coestimulação, sendo frequentemente mediado por moléculas de membrana nas APCs profissionais, tais como proteínas B7.

Histamina Amina biogênica armazenada nos grânulos dos mastócito e um dos importantes mediadores da hipersensibilidade imediata. A histamina liga-se a receptores específicos em vários tecidos e causa aumento na permeabilidade vascular e contração da musculatura lisa brônquica e intestinal.

HLA Ver **antígenos leucocitários humanos**.

HLA-DM Molécula peptídica de troca que desempenha papel crucial na via de apresentação de antígeno pelo MHC de classe II. O HLA-DM é encontrado no compartimento endossomal especializado MIIC e facilita a remoção do peptídeo derivado da cadeia invariante CLIP e a ligação de outros peptídeos às moléculas do MHC de classe II. O HLA-DM é codificado por um gene no MHC e é estruturalmente semelhante às moléculas do MHC de classe II, mas não é polimórfico.

Homeostasia No sistema imune adaptativo, é a manutenção de um número constante e repertório diverso de linfócitos, apesar do surgimento de novos linfócitos e da tremenda expansão de clones individuais que podem ocorrer durante as expostas aos antígenos imunogênicos. A homeostasia é atingida por meio de diversas vias de morte e inativação de linfócitos reguladas.

***Homing* de linfócitos** Migração dirigida de subpopulações de linfócitos circulantes para sítios teciduais particulares. O *homing* de linfócitos é regulado pela expressão seletiva de moléculas de adesão endotelial e quimiocinas, em diferentes tecidos. Por exemplo, alguns linfócitos se dirigem preferencialmente para a mucosa intestinal, o que é regulado pela quimiocina CCL25 e pelas moléculas de adesão endotelial MadCAM, ambas expressas no intestino, as quais se ligam respectivamente ao receptor de quimiocina CCR9 e à integrina $\alpha_4\beta_1$ em linfócitos de *homing* intestinal.

Idiótipo Propriedade de um grupo de anticorpos ou TCRs definida pelo compartilhamento de um idiotopo particular; i.e., anticorpos que compartilham um idiotopo particular pertencem ao mesmo idiótipo. *Idiótipo* também é usado para descrever uma coleção de idiotopos expressos por uma molécula de Ig, sendo frequentemente usado como sinônimo de *idiotopo*.

Ignorância clonal Forma de não responsividade do linfócito na qual autoantígenos são ignorados pelo sistema imune mesmo quando

linfócitos específicos para aqueles antígenos permanecem viáveis e funcionais.

Igα e Igβ Proteínas β que são necessárias para a expressão na superfície e funções de sinalização de Ig de membrana nas células B. Os pares Igα e Igβ estão ligados um ao outro por pontes dissulfeto, associadas não covalentemente à cauda citoplasmática da Ig de membrana, formando os complexos BCR. Os domínios citoplasmáticos da Igα e da Igβ contêm ITAMs que estão envolvidos nos eventos iniciais durante a ativação da célula B induzida pelo antígeno.

Imunidade Proteção contra doença, normalmente doença infecciosa, mediada pelas células e tecidos que são coletivamente chamados de sistema imune. De maneira geral, imunidade refere-se a capacidade de responder às substâncias estranhas, incluindo microrganismos e moléculas não infecciosas.

Imunidade adaptativa Forma de imunidade que é mediada pelos linfócitos e estimulada pela exposição a agentes infecciosos. Em contraste à imunidade inata, a imunidade adaptativa é caracterizada por uma requintada especificidade para macromoléculas distintas e por memória, a qual é a capacidade de responder mais vigorosamente a exposições repetidas ao mesmo microrganismo. A imunidade adaptativa é também chamada de imunidade específica ou imunidade adquirida.

Imunidade ativa Forma de imunidade adaptativa que é induzida pela exposição a um antígeno estranho e ativação de linfócitos e na qual o indivíduo imunizado tem papel ativo na resposta ao antígeno. Esse tipo contrasta com a imunidade passiva, na qual um indivíduo recebe anticorpos ou linfócitos de outro indivíduo que foi previamente imunizado de maneira ativa.

Imunidade humoral Tipo de resposta imune adaptativa mediada por anticorpos produzidos pelos linfócitos B. A imunidade humoral é o principal mecanismo de defesa contra microrganismos extracelulares e suas toxinas.

Imunidade inata Proteção contra infecção que depende de mecanismos que existem antes da infecção, são capazes de uma rápida resposta aos microrganismos e reagem essencialmente da mesma maneira a repetidas infecções. O sistema imune inato inclui barreiras epiteliais, células fagocíticas (neutrófilos, macrófagos), células NK, sistema complemento e citocinas, amplamente produzidas por células dendríticas e fagócitos mononucleares, que regulam e coordenam muitas atividades das células da imunidade inata.

Imunidade mediada por células (IMC) Forma de imunidade adaptativa que é mediada por linfócitos T e serve como mecanismo de defesa contra vários tipos de microrganismos que são adquiridos pelos fagócitos ou que infectam células não fagocíticas. As respostas imunes mediadas por células incluem ativação de fagócitos mediada por célula T $CD4^+$ e morte de células infectadas mediada por CTL $CD8^+$.

Imunidade neonatal Imunidade humoral passiva às infecções em mamíferos nos primeiros meses de vida, antes do completo desenvolvimento do sistema imune. A imunidade neonatal é mediada por anticorpos produzidos pela mãe transportados através da placenta para a circulação fetal antes do nascimento ou derivado do leite ingerido e transportado através do epitélio intestinal.

Imunidade passiva Forma de imunidade a um antígeno que é estabelecida em um indivíduo pela transferência de anticorpos ou de linfócitos de um indivíduo imune àquele antígeno. O receptor de tal transferência pode se tornar imune ao antígeno sem nunca ter sido exposto ou ter respondido ao antígeno. Um exemplo de imunidade passiva é a transferência de soros humanos contendo anticorpos específicos para certas toxinas microbianas ou veneno de cobra a um indivíduo não imunizado previamente.

Imunidade tumoral Proteção contra o desenvolvimento ou progressão de tumores pelo sistema imune. Embora as respostas imunes aos tumores de ocorrência natural possam ser

frequentemente demonstradas, tumores frequentemente escapam dessas respostas. Novas terapias que têm como alvo moléculas inibitórias da célula T, tais como PD-1, estão se mostrando efetivas no aumento da imunidade antitumoral mediada pela célula T.

Imunoblot Técnica analítica na qual anticorpos são usados para detectar a presença de um antígeno ligado a uma matriz sólida (i.e., transferido para essa matriz), tais como um papel de filtro (também conhecida como *Western blot*).

Imunocomplexo Complexo multimolecular de moléculas de anticorpo ligadas ao antígeno. Como cada molécula de anticorpo possui um mínimo de dois sítios de ligação ao antígeno e muitos antígenos são multivalentes, os imunocomplexos podem variar consideravelmente em tamanho. Os imunocomplexos ativam mecanismos efetores da imunidade humoral, tais como a via clássica do complemento e a ativação da fagocitose mediada por receptores Fc. A deposição de imunocomplexos circulantes nas paredes dos vasos sanguíneos ou no glomérulo renal podem levar a inflamação e doença.

Imunodeficiência Ver **imunodeficiência adquirida** e **imunodeficiência congênita**.

Imunodeficiência adquirida Deficiência no sistema imune que é adquirida após o nascimento, normalmente em decorrência de infecção (p. ex.: AIDS) e não está relacionada a um defeito genético. Sinônimo de **imunodeficiência secundária**.

Imunodeficiência combinada grave (SCID, do inglês, *severe combined immunodeficiency*) Doenças de imunodeficiência nas quais tanto os linfócitos B quanto os linfócitos T não se desenvolvem ou não funcionam apropriadamente e, dessa forma, tanto a imunidade humoral quanto a imunidade mediada por células são prejudicadas. Crianças com SCID normalmente têm infecções durante o primeiro ano de vida e sucumbem a essas infecções a menos que a imunodeficiência seja tratada. A SCID tem várias causas genéticas.

Imunodeficiência congênita Defeito genético no qual uma deficiência herdada em algum aspecto do sistema imune inato ou adaptativo leva a um aumento da suscetibilidade a infecções. A imunodeficiência congênita é frequentemente se manifesta cedo na infância e adolescência, mas algumas vezes é detectada clinicamente tardiamente na vida. Sinônimo de **imunodeficiência primária**.

Imunodeficiência primária Ver **imunodeficiência congênita**.

Imunodeficiência secundária Ver **imunodeficiência adquirida**.

Imunofluorescência Técnica na qual uma molécula é detectada pelo uso de um anticorpo marcado com uma sonda fluorescente. Por exemplo, na microscopia de imunofluorescência, as células que expressam um antígeno de superfície em particular podem ser coradas com um anticorpo conjugado à fluoresceína específico para o antígeno e então visualizado com um microscópio de fluorescência.

Imunógeno Antígeno que induz uma resposta imune. Nem todos os antígenos são imunógenos. Por exemplo, compostos de baixo peso molecular (haptenos) podem se ligar aos anticorpos, mas não estimularão uma resposta imune a menos que estejam ligados a macromoléculas (carreadores).

Imunoglobulina (Ig) Sinônimo de anticorpo (ver **anticorpo**).

Imuno-histoquímica Técnica para detectar a presença de um antígeno em seções histológicas de tecidos pelo uso de um anticorpo acoplado a uma enzima que é específico para o antígeno. A enzima converte um substrato incolor em uma substância insolúvel colorida que precipita no local onde o anticorpo, e consequentemente o antígeno, estão localizados. A posição do precipitado colorido e, portanto, do antígeno, na seção do tecido é observada por microscopia de luz convencional. A imuno-histoquímica é uma técnica de rotina na patologia diagnóstica e em vários campos de pesquisa.

Imunoprecipitação Técnica para o isolamento de uma molécula a partir de uma solução pela sua ligação a um anticorpo e, então, tornando o complexo antígeno-anticorpo insolúvel, tanto pela precipitação com um segundo anticorpo quanto pelo acoplamento do primeiro anticorpo a uma partícula ou esfera insolúvel.

Imunossupressão Inibição de um ou mais componentes do sistema imune adaptativo ou inato como resultado de uma doença subjacente ou intencionalmente induzida por drogas com o propósito de prevenir ou tratar a rejeição do enxerto ou a doença autoimune. Uma droga imunossupressora comumente utilizada é a ciclosporina, a qual bloqueia a produção de citocinas pela célula T.

Imunoterapia Tratamento de uma doença com agentes terapêuticos que promovem ou inibem as respostas imunes. Por exemplo, a imunoterapia do câncer envolve a promoção de respostas imunes ativas aos antígenos tumorais ou a administração de anticorpos ou células T antitumorais para estabelecer a imunidade passiva.

Imunotoxinas Reagentes que podem ser usados no tratamento do câncer e consistem em conjugados covalentes de uma potente toxina celular, tais como ricina ou toxina diftérica, com anticorpos específicos aos antígenos expressos na superfície das células tumorais. Espera-se que tais reagentes possam atingir e matar especificamente as células tumorais sem danificar as células normais, mas imunotoxinas seguras e efetivas ainda precisam ser desenvolvidas.

Inflamação Reação complexa de tecidos vascularizados à infecção ou lesão celular que envolve acúmulo extravascular de proteínas plasmáticas e leucócitos. A inflamação aguda é um resultado comum das respostas imunes inatas, e a resposta imune adaptativa local também pode promover inflamação. Embora a inflamação tenha função protetora no controle de infecções e promova reparo tecidual, ela também pode causar dano aos tecidos e doença.

Inflamação imune Inflamação resultante de uma resposta imune adaptativa ao antígeno. O infiltrado celular no sítio inflamatório pode incluir células do sistema imune inato, tais como neutrófilos e macrófagos, os quais são recrutados como resultado das ações de citocinas de célula T.

Inflamassomo Complexo multiproteico no citosol de fagócitos mononucleares, células dendríticas e outros tipos celulares que gera proteoliticamente a forma ativa da IL-1β a partir do precursor inativo pró-IL-1β. A formação do complexo inflamassomo, uma variedade que inclui NLRP3 (um receptor de reconhecimento de padrão do tipo NOD), o adaptador ASC (proteína associada a apoptose do tipo *speck* contendo um domínio CARD) e a pró-caspase-1, é estimulada por uma variedade de produtos microbianos, moléculas associadas ao dano celular e cristais.

Inibidor de C1 (C1 INH, do inglês, *C1 inhibitor*) Inibidor plasmático proteico da via clássica de ativação do complemento. O C1 INH é um inibidor de serina protease (serpina) que mimetiza o substrato normal dos componentes C1r e C1s de C1. Uma deficiência genética em C1 INH causa a doença angioedema hereditário.

Integrinas Proteínas heterodiméricas de superfície celular cuja principal função é mediar a adesão de células a outras células ou a matriz extracelular. As integrinas são importantes para as interações de células T com APCs e para a migração de leucócitos do sangue para os tecidos. A atividade de ligação ao ligante das integrinas de leucócitos depende de sinais induzidos pela ligação de quimiocinas aos receptores de quimiocinas. Duas integrinas importantes no sistema imune são VLA-4 (antígeno tardio 4) e LFA-1 (antígeno associado à função leucocitária 1).

Intensificadores Sequência reguladora de nucleotídeo em um gene que está localizada tanto *upstream* quanto *downstream* do promotor, se liga a fatores de transcrição e aumenta a atividade do promotor. Nas células do sistema imune, os intensificadores

são responsáveis pela integração dos sinais da superfície celular que levam à indução da transcrição gênica, codificando muitas das proteínas efetoras de uma resposta imune, tais como as citocinas.

Interferons Subgrupo de citocinas originalmente denominadas pela capacidade em interferir nas infecções virais, mas que têm outras importantes funções imunomoduladoras. Os interferons do tipo I incluem o interferon-α interferon-β, cuja principal função é prevenir a replicação viral nas células; o interferon do tipo II, também denominado interferon-γ, ativa macrófagos e vários outros tipos celulares (ver Apêndice I).

Interleucinas Qualquer dentre um grande número de citocinas denominadas com um sufixo numérico mais ou menos sequencial de acordo com a ordem de descoberta ou com a caracterização molecular (p. ex.: interleucina-1, interleucina-2). Algumas citocinas foram originalmente denominadas pelas suas atividades biológicas e não têm a designação interleucina (ver Apêndice I).

Isotipo Um de cinco tipos de anticorpo, determinado por qual das cinco diferentes formas de cadeia pesada está presente. Os isotipos de anticorpo incluem IgM, IgD, IgA e IgE, e cada isotipo realiza uma gama diferente de funções efetoras. Variações estruturais adicionais caracterizam subclasses distintas de IgG e IgA.

Janus quinases (JAKs, do inglês, *Janus kinases*) Família de tirosina quinases que estão associadas às caudas citoplasmáticas de diversos receptores de citocinas, incluindo receptores para IL-2, IL-3, IL-4, IFN-γ, IL-12 e outras. Em resposta à ligação da citocina e dimerização do receptor, as JAKs fosforilam os receptores de citocinas para permitir a ligação de STATs e, então, as JAKs fosforilam e desse modo ativam as STATs. Diferentes JAK quinases se associam a diferentes receptores de citocinas.

Lâmina própria Camada de tecido conectivo frouxo subjacente ao epitélio em tecidos mucosos, tais como intestinos e vias aéreas,

onde células dendríticas, mastócitos, linfócitos e macrófagos medeiam respostas imunes aos patógenos invasores.

Lck Família de tirosina quinase Src, não receptores, que se associa não covalentemente às caudas citoplasmáticas de moléculas de CD4 e CD8 nas células T e está envolvida nos eventos iniciais de sinalização da ativação de células T induzida pelo antígeno. A Lck medeia a fosforilação da tirosina das caudas citoplasmáticas das proteínas CD3 e ζ do complexo TCR.

Lectina ligante de manose (MBL, do inglês, *mannose-binding lectin*) Proteína plasmática que se liga a resíduos de manose nas paredes celulares bacterianas e atua como uma opsonina promovendo a fagocitose da bactéria pelos macrófagos. Os macrófagos expressam um receptor de superfície para C1q que também liga a MBL e medeia a captura de organismos opsonizados.

Lectina tipo C Membro de uma grande família de proteínas ligantes de carboidratos cálcio-dependentes, muitas das quais possuem papel importante na imunidade inata e adaptativa. Por exemplo, lectinas solúveis tipo C ligam-se às estruturas de carboidratos microbianos e medeiam fagocitose ou ativação do complemento (p. ex.: lectina ligante de manose, dectinas, colectinas, ficolinas).

Leishmania Protozoário parasita intracelular obrigatório que infecta macrófagos e pode causar uma doença inflamatória crônica envolvendo muitos tecidos. A infecção por *Leishmania* em camundongos tem servido como um modelo de sistema para o estudo das funções efetoras de diversas citocinas e subpopulações de células T auxiliares que as produzem. As respostas Th1 à *Leishmania major* e a produção de IFN-γ associada controlam a infecção, ao passo que as respostas Th2 com produção de IL-4 levam à doença disseminada letal.

Leucemia Doença maligna de precursores de células sanguíneas da medula óssea na qual grandes números de células leucêmicas normalmente ocupam a medula óssea e frequentemente circulam na corrente sanguínea. Leucemias linfocíticas são derivadas de

precursores de célula B ou T, leucemias mieloides são derivadas de precursores de granulócitos ou monócitos e leucemias eritroides são derivadas de precursores de hemácias.

Leucotrienos Classe de mediadores inflamatórios lipídicos derivados do ácido araquidônico produzidos pela via das lipoxigenases em muitos tipos celulares. Mastócitos produzem leucotrieno C_4 (LTC_4) e os produtos da sua degradação LTD_4 e LTE_4 de maneira abundante, os quais se ligam a receptores específicos nas células musculares lisas e causam broncoconstrição prolongada. Os leucotrienos contribuem para os processos patológicos da asma brônquica. Coletivamente, LTC_4, LTD_4 e LTE_4 constituem o que foi chamado no passado de substância de reação lenta da anafilaxia.

Ligante de c-Kit (fator de célula-tronco) Proteína necessária para a hematopoiese, fases iniciais no desenvolvimento da célula T no timo e desenvolvimento de mastócitos. O ligante de c-Kit é produzido em formas ligadas à membrana e solúveis pelas células estromais na medula óssea e no timo e liga-se ao receptor tirosina quinase de membrana c-Kit das células-tronco multipotentes.

Ligante de Fas (ligante de CD95) Proteína de membrana que é membro da família de proteínas do TNF expressa nas células T ativadas. O ligante de Fas liga-se ao receptor de morte Fas e, desse modo, estimula a via de sinalização que leva à morte celular por apoptose da célula que expressa Fas. Mutações no gene do ligante de Fas causam doenças autoimunes sistêmicas em camundongos.

Linfocina Nome antigo para uma citocina (mediador proteico solúvel das respostas imunes) produzida pelos linfócitos.

Linfócito B Único tipo celular capaz de produzir moléculas de anticorpos e, portanto, o mediador das respostas imunes humorais. Os linfócitos B, ou células B, desenvolvem-se na medula óssea e células B maduras são encontradas principalmente nos folículos linfoides em tecidos linfoides

secundários, na medula óssea e, em baixos números, na circulação.

Linfócito B imaturo Célula B com IgM^+ e IgD^- de membrana, recentemente derivada de precursores da medula, que não prolifera ou se diferencia em resposta aos antígenos, mas, em vez disso, pode sofrer morte apoptótica ou se tornar funcionalmente não responsiva. Essa propriedade é importante para a seleção negativa das células B que são específicas para autoantígenos presentes na medula óssea.

Linfócito grande granular Outro nome para a célula NK, com base na aparência morfológica desse tipo celular no sangue.

Linfócito *naive* Linfócito B ou T maduro que não encontrou previamente o antígeno. Quando os linfócitos *naive* são estimulados pelo antígeno, eles se diferenciam em linfócitos efetores, tais como células B secretoras de anticorpo, células T auxiliares produtoras de citocinas e CTLs capazes de matar células-alvo. Os linfócitos *naive* possuem marcadores de superfície e padrões de recirculação que são distintos daqueles de linfócitos previamente ativados (*Naive* também se refere a um indivíduo não imunizado).

Linfócito T Componente-chave das respostas imunes mediadas por células no sistema imune adaptativo. Os linfócitos T amadurecem no timo, circulam no sangue, populam os tecidos linfoides secundários e são recrutados para sítios periféricos de exposição ao antígeno. Eles expressam receptores antigênicos (TCRs) que reconhecem fragmentos peptídicos de proteínas estranhas ligados às moléculas de MHC próprias. Subpopulações funcionais de linfócitos incluem células T auxiliares $CD4^+$ e CTLs $CD8^+$.

Linfócito T citotóxico (ou citolítico) (CTL, do inglês, *cytotoxic (or cytolytic) T lymphocyte*) Tipo de linfócito T cuja principal função efetora é reconhecer e matar células do hospedeiro infectadas por vírus ou outros microrganismos intracelulares. Os CTLs normalmente expressam CD8 e reconhecem peptídeos microbianos expostos pelas moléculas de MHC de classe I. A

morte das células infectadas pelo CTL envolve a liberação dos conteúdos de grânulos citoplasmáticos para o citosol das células infectadas, levando à morte apoptótica.

Linfócitos B da zona marginal Subpopulação de linfócitos B, encontrada exclusivamente na zona marginal do baço, que responde rapidamente a antígenos microbianos oriundos do sangue produzindo anticorpos IgM com diversidade limitada.

Linfócitos B-1 Subpopulação de linfócitos B que se desenvolvem mais cedo durante a ontogenia do que o fazem as células B convencionais, expressam um repertório limitado de genes V com pouca diversidade juncional e secretam anticorpos IgM que se ligam aos antígenos T-independentes. Muitas células B-1 expressam a molécula CD5 (Ly-1).

Linfócitos de memória Células B e T de memória são produzidas pela estimulação antigênica de linfócitos *naive* e sobrevivem em um estado funcionalmente quiescente por muitos anos após a eliminação do antígeno. Os linfócitos de memória medeiam respostas rápidas e aumentadas (i.e., de memória ou de reencontro) a subsequentes exposições aos antígenos.

Linfócitos infiltrantes de tumores (TILs, do inglês, *tumor-infiltrating lymphocytes*) Linfócitos isolados de infiltrados inflamatórios presentes dentro e ao redor de amostras de ressecção cirúrgica de tumores sólidos que são enriquecidas com CTLs e células NK tumor-específicos. Em um modelo experimental de tratamento do câncer, os TILs são cultivados *in vitro* na presença de altas doses de IL-2 e são então transferidos de volta para os pacientes com o tumor.

Linfócitos intraepiteliais Linfócitos T presentes na epiderme da pele e no epitélio da mucosa que tipicamente expressam uma diversidade limitada de receptores antigênicos. Alguns desses linfócitos, chamados de células NKT invariantes, podem reconhecer produtos microbianos, tais como glicolipídeos, associados a moléculas não polimórficas do tipo MHC de classe I. Outros, denominados células T $\gamma\delta$, reconhecem diversos

antígenos não peptídicos, não ligados às moléculas de MHC. Os linfócitos T intraepiteliais podem ser considerados células efetoras da imunidade inata e atuam na defesa do hospedeiro secretando citocinas que ativam fagócitos e matando células infectadas.

Linfoma Tumor maligno de linfócitos B ou T geralmente proveniente de tecidos linfoides e que se espalha nesses tecidos, mas que se dissemina a outros tecidos. Os linfomas frequentemente expressam características fenotípicas de linfócitos normais dos quais foram derivados.

Linfoma de Burkitt Tumor maligno de célula B que é diagnosticado por características histológicas, mas quase sempre carrega uma translocação cromossômica recíproca envolvendo o *loci* do gene *Ig* e o gene celular *MYC* no cromossomo 8. Muitos casos de linfoma de Burkitt na África estão associados a infecções pelo vírus Epstein-Barr.

Linfonodo Pequenos órgãos nodulares, encapsulados e ricos em linfócitos, situados ao longo dos canais linfáticos distribuídos por todo o corpo, onde as respostas imunes adaptativas aos antígenos oriundos da linfa são iniciadas. Os linfonodos, os quais são órgãos linfoides secundários ou periféricos, possuem uma arquitetura anatômica especializada que regula as interações das células B, células T, células dendríticas, macrófagos e antígenos, para maximizar a indução das respostas imunes protetoras. Os linfonodos também realizam uma função de filtragem, prendendo microrganismos e outros constituintes potencialmente prejudiciais em fluídos teciduais pela drenagem da linfa dentro do sangue.

Linfotoxina (LT, TNF-β) Citocina produzida pelas células T que é homóloga ao TNF e se liga aos mesmos receptores. Assim como o TNF, a LT tem efeitos pró-inflamatórios, incluindo ativação endotelial e de neutrófilos. A LT também é crítica para o desenvolvimento normal dos órgãos linfoides.

Linhagem de camundongo consanguínea Linhagem de camundongos criada pelo cruzamento repetitivo de irmãos que é caracterizada pela homozigosidade em todos os *locus* gênicos. Cada camundongo de uma linhagem consaguínea é geneticamente idêntico (singênico) a todos os outros camundongos da mesma linhagem.

Linhagens de camundongo congênica Linhagens consanguíneas de camundongos que são idênticos uns aos outros em cada *locus* gênico, exceto naquele para o qual eles foram selecionados para diferirem; tais linhagens são criadas por repetidos cruzamentos e seleções para um traço em particular. Linhagens congênicas que diferem umas das outras em um alelo do MHC em particular têm sido úteis para definir a função das moléculas do MHC.

Lipopolissacarídeo Sinônimo de **endotoxina**.

Lisossomo Organela acídica, ligada à membrana e abundante em células fagocíticas que contém enzimas proteolíticas que degradam proteínas derivadas tanto de compartimentos extracelular quando de dentro da célula. Os lisossomos estão envolvidos na via de processamento antigênico do MHC de classe II.

Lúpus eritematoso sistêmico (LES) Doença autoimune sistêmica crônica que afeta predominantemente mulheres e é caracterizada por erupções cutâneas, artrite, glomerulonefrite, anemia hemolítica, trombocitopenia e envolvimento do sistema nervoso central. Muitos anticorpos diferentes são encontrados em pacientes com LES, particularmente anticorpos anti-DNA. Muitas das manifestações do LES são decorrentes da formação de imunocomplexos compostos de autoanticorpos e seus antígenos específicos, com deposição destes complexos nos pequenos vasos sanguíneos em vários tecidos. O mecanismo subjacente para a quebra da autotolerância no LES não é compreendido.

Macrófago Célula fagocítica hematopoieticamente derivada que desempenha importantes papéis nas respostas imunes inata e adaptativa. Os macrófagos são ativados por produtos

microbianos tais como endotoxina e por citocinas da célula T tais como o IFN-γ. Macrófagos ativados fagocitam e matam microrganismos, secretam citocinas pró-inflamatórias e apresentam antígenos às células T auxiliares. Os macrófagos compreendem células derivadas de monócitos sanguíneos recentemente recrutados nos sítios de inflamação e células de longa vida residentes do tecido derivadas de órgãos hematopoiéticos. Os macrófagos teciduais recebem diferentes nomes e podem realizar funções especiais; incluem a microglia do sistema nervoso central, as células de Kupffer no fígado, macrófagos alveolares nos pulmões e osteoclastos no osso.

Macrófagos M1 Ver **ativação clássica de macrófagos**.

Macrófagos M2 Ver **ativação alternativa de macrófagos**.

Mastócito Principal célula efetora das reações de hipersensibilidade imediata (alérgica). Os mastócitos são derivados da medula, residem na maioria dos tecidos adjacentes aos vasos sanguíneos, expressam receptores Fc de alta afinidade para IgE e contêm numerosos grânulos contendo mediadores. A ligação cruzada de IgE induzida pelos antígenos aos receptores Fcε dos mastócitos causa a liberação do conteúdo de seus grânulos, além da síntese e secreção de outros mediadores neoformados, levando a uma reação de hipersensibilidade imediata.

Maturação de afinidade Processo que leva ao aumento da afinidade dos anticorpos por um antígeno em particular à medida que a resposta ao anticorpo dependente de células T progride. A maturação de afinidade ocorre nos centros germinativos dos tecidos linfoides e é o resultado da mutação somática dos genes *Ig*, seguida pela sobrevivência seletiva das células B produtoras dos anticorpos de maior afinidade.

Maturação de linfócitos Processo pelo qual células-tronco pluripotentes da medula óssea se desenvolvem em linfócitos B ou T *naive*, maduros e expressando receptor antigênico, que povoam os tecidos linfoides periféricos. Esse processo ocorre nos ambientes especializados da medula óssea (para células B) e no

timo (para células T). Sinônimo de **desenvolvimento de linfócitos**.

Medula óssea Tecido no interior da cavidade central do osso que é o sítio de geração de todas as células sanguíneas circulantes em adultos, incluindo linfócitos imaturos e o sítio de maturação da célula B.

Memória Propriedade do sistema imune adaptativo em responder mais prontamente, com maior magnitude e mais efetivamente a exposição repetida a um antígeno, quando comparado com a resposta à primeira exposição.

Mieloma múltiplo Tumor maligno de células B produtoras de anticorpo que frequentemente secretam Igs ou partes de moléculas de Ig. Os anticorpos monoclonais produzidos pelos mielomas múltiplos foram críticos para as análises bioquímicas iniciais sobre a estrutura do anticorpo.

Migração de linfócitos Movimento dos linfócitos da corrente sanguínea para os tecidos periféricos.

Mimetismo molecular Mecanismo proposto de autoimunidade disparado por infecção com um microrganismo contendo antígenos que reagem cruzadamente com os autoantígenos. As respostas imunes ao microrganismo resultam em reações contra os próprios tecidos.

Molécula de adesão Molécula da superfície celular cuja função é promover as interações de adesão com outras células ou com a matriz extracelular. Leucócitos expressam vários tipos de moléculas de adesão, como selectinas, integrinas e membros da superfamília de Ig, e essas moléculas possuem papel crucial na migração celular e ativação celular nas respostas imunes inata e adaptativa.

Molécula do complexo principal de histocompatibilidade (MHC) de classe I Uma entre duas formas de proteínas heterodiméricas polimórficas de membrana que se liga e expõe fragmentos peptídicos de antígenos proteicos na superfície das APCs, para o

reconhecimento pelos linfócitos T. As moléculas de MHC de classe I normalmente expõem peptídeos derivados de proteínas do citosol da célula, para reconhecimento pelas células T $CD8^+$.

Molécula do complexo principal de histocompatibilidade (MHC) de classe II Uma entre duas formas de proteínas heterodiméricas polimórficas de membrana que se liga e expõe fragmentos peptídicos de antígenos proteicos na superfície das APCs, para reconhecimento pelos linfócitos T. As moléculas do MHC de classe II normalmente expõem peptídeos derivados de proteínas extracelulares que são internalizadas em vesículas endocíticas ou fagocíticas, para reconhecimento pelas células T $CD4^+$.

Molécula do complexo principal de histocompatibilidade (MHC, do inglês, *major histocompatibility complex*) Proteína heterodimérica de membrana codificada no *locus* do MHC que serve como uma molécula de exposição de peptídeos para o reconhecimento pelos linfócitos T. Existem dois tipos de moléculas de MHC estruturalmente distintos. As moléculas do MHC de classe I estão presentes na maioria das células nucleadas, ligam peptídeos derivados de proteínas citosólicas e são reconhecidas pelas células T $CD8^+$. As moléculas do MHC de classe II estão amplamente restritas às células dendríticas, macrófagos e linfócitos B, ligam peptídeos derivados de proteínas endocitadas e são reconhecidas pelas células T $CD4^+$.

Molécula H-2 Molécula do MHC no camundongo. O MHC do camundongo foi originalmente denominado *locus* H-2.

Moléculas CD Moléculas da superfície celular expressas em vários tipos celulares no sistema imune, designadas pelo número do *cluster of differentiation* (grupamento de diferenciação) ou número do CD. Ver Apêndice II para uma lista das moléculas CD.

Monócito Tipo de célula sanguínea circulante derivada da medula óssea que é precursora dos macrófagos teciduais. Os monócitos são ativamente recrutados para os sítios inflamatórios, onde eles se diferenciam em macrófagos.

Morte celular induzida por ativação (AICD, do inglês, *activation-induced cell death*) Apoptose de linfócitos ativados; termo geralmente usado para células T.

Morte celular programada Ver **apoptose**.

Motivo de ativação baseado na tirosina do imunorreceptor (ITAM, do inglês, *immunoreceptor tyrosine-based activation motif*) Motivo proteico conservado composto de duas cópias da sequência tirosina-x-x-leucina (onde x é um aminoácido inespecífico) encontrado nas caudas citoplasmáticas de várias proteínas de membrana no sistema imune que estão envolvidas na transdução de sinal. Os ITAMs estão presentes nas proteínas ζ e CD3 do complexo TCR, nas proteínas Igα e Igβ no complexo BCR e em vários receptores Fc de Ig. Quando esses receptores se ligam aos seus ligantes, os resíduos de tirosina dos ITAMs se tornam fosforilados e formam sítios de ancoragem para outras moléculas envolvidas nas vias de propagação de sinal de ativação da célula.

Motivo de inibição baseado na tirosina do imunorreceptor (ITIM, do inglês, *immunoreceptor tyrosine-based inhibition motif*) Motivo de seis aminoácidos (isoleucina-x-tirosina-x-x-leucina) encontrado nas caudas citoplasmáticas de vários receptores inibitórios no sistema imune, incluindo FcγRIIB nas células B e receptores de morte do tipo Ig (KIRs) nas células NK. Quando esses receptores se ligam aos seus ligantes, os ITIMs se tornam fosforilados em seus resíduos de tirosina e formam um sítio de ancoragem para tirosinofosfatases proteicas, as quais atuam para inibir outras vias de transdução de sinal.

Multivalência Ver **polivalência**.

Mycobacterium Gênero de bactéria aeróbica, muitas espécies das quais podem sobreviver dentro de fagócitos e causar doença. A principal defesa do hospedeiro contra micobactérias, tais como *Mycobacterium tuberculosis,* é a imunidade mediada por células.

Neoepítopo Parte de uma macromolécula que acabou de sofrer uma alteração, tanto por modificação química quanto, no caso de

proteínas, por mutação do gene que as codifica, de tal maneira que a nova estrutura seja reconhecida por anticorpos ou células T. Neoepítopos codificados por proteínas mutadas são os maiores indutores de respostas de célula T tumor-específicas.

Neutrófilo (também leucócito polimorfonuclear [PMN]) Célula fagocítica caracterizada por um núcleo lobular segmentado e grânulos citoplasmáticos preenchidos por enzimas degradativas. Os PMNs são os mais abundante tipo de células brancas circulantes e os principais tipos celulares em respostas inflamatórias agudas às infecções bacterianas.

***N*-formilmetionina** Aminoácido que inicia todas as proteínas bacterianas e nenhuma proteína de mamífero (exceto aquelas sintetizadas dentro da mitocôndria) e serve como um sinal da infecção para o sistema imune. Receptores específicos para peptídeos contendo *N*-formilmetionina são expressos nos neutrófilos e medeiam a ativação dessas células.

Notch 1 Receptor de sinalização da superfície celular que é proteoliticamente clivado após a ligação do ligante, sua porção intracelular clivada transloca para o núcleo e regula a expressão gênica. A sinalização de Notch 1 é necessária para o comprometimento dos precursores de célula T em desenvolvimento para a linhagem de célula T $\alpha\beta$.

Nucleotídeos CpG Sequências não metiladas de citidina-guanina encontradas no DNA microbiano que estimulam as respostas imunes inatas. Os nucleotídeos CpG são reconhecidos pelo receptor do tipo *Toll* 9 e têm propriedades adjuvantes no sistema imune de mamíferos.

Nucleotídeos N Nome dado aos nucleotídeos adicionados aleatoriamente às junções entre segmentos gênicos V, D e J nos *Ig* ou *TCR* durante o desenvolvimento do linfócito. A adição de até 20 destes nucleotídeos, a qual é mediada pela enzima deoxiribonucleotidil transferase terminal, contribui para a diversidade dos repertórios de anticorpos e de TCR.

Nucleotídeos P Pequenas sequências invertidas de nucleotídeos repetidos nas junções VDJ de genes *Ig* e *TCR* rearranjados que são gerados pela clivagem assimétrica de grampos intermediários de DNA mediada por RAG-1 e RAG-2 durante eventos de recombinação somática. Os nucleotídeos P contribuem para a diversidade juncional dos receptores de antígenos.

Opsonina Molécula que se torna ligada à superfície do microrganismo e pode ser reconhecida pelos receptores de superfície de neutrófilos e macrófagos e que aumenta a eficiência da fagocitose do microrganismo. As opsoninas incluem anticorpos IgG, os quais são reconhecidos pelo receptor Fcγ nos fagócitos, e fragmentos de proteínas do complemento, os quais são reconhecidos por CR1 (CD35) e pela integrina Mac-1 de leucócitos.

Opsonização Processo de ligação de opsoninas, tais como IgG ou fragmentos do complemento, às superfícies microbianas para marcarem os microrganismos para a fagocitose.

Organização da linhagem germinativa Arranjo herdado de segmentos gênicos variável, diversidade, junção e da região constante do *loci* do receptor antigênico em células não linfoides ou em linfócitos imaturos. Nos linfócitos B ou T em desenvolvimento, a organização da linhagem germinativa é modificada pela recombinação somática para formar genes *Ig* ou *TCR* funcionais.

Órgão linfoide gerador Órgão no qual os linfócitos se desenvolvem a partir de precursores imaturos. A medula óssea e o timo são os principais órgãos linfoides geradores nos quais se desenvolvem, respectivamente, as células B e as células T.

Órgão linfoide terciário Coleção de linfócitos e células apresentadoras de antígenos organizada dentro dos folículos das células B e zonas de células T que se desenvolve em sítios de inflamação crônica imunomediada, tais como a sinóvia das articulações de pacientes com artrite reumatoide.

Órgãos e tecidos linfoides periféricos Coleções organizadas de linfócitos e células acessórias, incluindo o baço, linfonodos e tecidos linfoides associados à mucosa, nas quais as respostas imunes adaptativas são iniciadas.

Óxido nítrico Molécula com uma grande variedade de atividades que em macrófagos atua como um potente agente microbicida para matar organismos ingeridos.

Óxido nítrico sintase Membro de uma família de enzimas que sintetizam o composto vasoativo e microbicida óxido nítrico a partir da L-arginina. Macrófagos expressam a forma induzível desta enzima após ativação por vários estímulos microbianos ou citocinas.

Padrões moleculares associados ao dano (DAMPs, do inglês, *damage-associated molecular patterns*) Moléculas endógenas que são produzidas ou liberadas por células lesadas e que estão morrendo, que se ligam a receptores de reconhecimento de padrão e estimulam as respostas imunes inatas. Exemplos incluem proteínas de alta mobilidade do grupo box 1 (HMGB1, do inglês, *high-mobility group box 1*), ATP extracelular e ácido úrico.

Padrões moleculares associados aos patógenos (PAMPs, do inglês, *pathogen-associated molecular patterns*) Estruturas produzidas por microrganismos, mas não por células de mamíferos (hospedeiro), as quais são reconhecidas pelo sistema imune inato, estimulando-o. Exemplos incluem lipopolissacarídeo bacteriano e RNA viral de fita dupla.

Patogenicidade Capacidade de um microrganismo em causar doença. Múltiplos mecanismos podem contribuir para a patogenicidade, incluindo produção de toxinas, estimulação de respostas inflamatórias do hospedeiro e perturbação do metabolismo celular do hospedeiro.

PD-1 Receptor inibitório homólogo ao CD28 que é expresso em células T ativadas e se liga ao PD-L1 ou PD-L2, membros da

família de proteínas B7 expressa em vários tipos celulares. O PD-1 é regulado positivamente nas células T em decorrência de estimulação repetida ou prolongada, por exemplo, em quadro de infecções crônicas ou tumores, e o bloqueio do PD-1 com anticorpos monoclonais aumenta as respostas imunes antitumorais.

Pentraxinas Família de proteínas plasmáticas que contém cinco subunidades globulares idênticas; inclui a proteína C-reativa de fase aguda.

Peptídeo de cadeia invariante associado à classe II (CLIP, do inglês, *class II-associated invariant chain peptide*) Peptídeo remanescente da cadeia invariante que se encaixa na fenda de ligação do peptídeo no MHC de classe II e é removido pela ação da molécula de HLA-DM antes que a fenda se torne acessível aos peptídeos produzidos a partir de antígenos proteicos extracelulares.

Perforina Proteína presente nos grânulos dos CTLs e células NK. Quando a perforina é liberada dos grânulos de CTLs ou células NK ativadas, ela se insere na membrana de células infectadas adjacentes e promove a entrada de granzimas, levando à morte apoptótica da célula.

Piroptose Forma de morte celular programada de macrófagos e DCs induzida pela ativação de inflamassomo de caspase-1, caracterizada por aumento celular, perda da integridade de membrana e liberação de mediadores inflamatórios, tais como IL-1α. A piroptose resulta na morte de certos microrganismos que ganham acesso ao citosol, aumenta a eliminação inflamatória de bactérias, mas também contribui para o choque séptico.

Placas de Peyer Tecido linfoide organizado na lâmina própria de intestino delgado na qual as respostas imunes aos patógenos intestinais e outros antígenos ingeridos podem ser iniciadas. As placas de Peyer são compostas principalmente de células B, com pequenos números de células T e outras células, todas organizadas nos folículos de maneira semelhante àquelas

encontradas nos linfonodos, frequentemente com centros germinativos.

Plasmablasto Células circulantes, secretoras de anticorpos, que podem ser precursores de plasmócitos que residem na medula óssea e em outros tecidos.

Plasmócito Linfócito B secretor de anticorpo, terminalmente diferenciado, com uma aparência histológica característica, incluindo formato oval, núcleo excêntrico e halo perinuclear.

Polimorfismo Existência de duas ou mais formas alternativas, ou variantes, de um gene que estão presentes em frequências estáveis em uma população. Cada variante comum do gene polimórfico é denominada alelo e um indivíduo pode carregar dois alelos diferentes de um gene, cada um herdado de um progenitor diferente. Os genes do MHC são os genes mais polimórficos no genoma de mamíferos, alguns dos quais têm milhares de alelos.

Polivalência Presença de múltiplas cópias idênticas de um epítopo em uma única molécula de antígeno, superfície celular ou partícula. Antígenos polivalentes, tais como polissacarídeos bacterianos capsulares, são frequentemente capazes de ativar linfócitos B independentes de células T auxiliares. Termo usado como sinônimo de **multivalência**.

Polpa branca Parte do baço que é composta predominantemente de linfócitos, organizados em bainhas linfoides periarteriolares, folículos e outros leucócitos. O restante do baço contém sinusoides delineados por células fagocíticas e preenchidos com sangue, denominados **polpa vermelha**.

Polpa vermelha Compartimento anatômico e funcional do baço composto de sinusoides vasculares e dispersos, dentre os quais há grande número de eritrócitos, macrófagos, células dendríticas, linfócitos esparsos e plasmócitos. Os macrófagos da polpa vermelha removem os microrganismos, outras partículas estranhas e hemácias danificadas do sangue.

Pré-Tα Proteína transmembrana invariável com um único domínio extracelular do tipo Ig que se associa à cadeia β do TCR nas células pré-T para formar o receptor da célula pré-T.

Processamento antigênico Conversão intracelular de antígenos proteicos derivados do espaço extracelular ou do citosol em peptídeos e carregamento desses peptídeos em moléculas de MHC para exposição aos linfócitos T.

Promotor Sequência de DNA imediatamente 5′ ao local de início da transcrição de um gene onde se ligam as proteínas que iniciam a transcrição. O termo *promotor* é frequentemente usado para descrever toda a região 5′ reguladora de um gene, incluindo os intensificadores, que são sequências adicionais que se ligam aos fatores de transcrição e interagem com o complexo basal de transcrição para aumentar a taxa de iniciação transcricional. Outros intensificadores podem estar localizados a uma distância significativa do promotor, tanto a 5′ do gene, em íntrons, quanto a 3′ do gene.

Prostaglandinas Classe de mediadores inflamatórios lipídicos que são derivados do ácido araquidônico em muitos tipos celulares através da via da ciclooxigenase e que possuem atividades vasodilatadora, broncoconstritora e quimiotática. As prostaglandinas produzidas pelos mastócitos são importantes mediadores das reações alérgicas.

Proteassomo Grande complexo enzimático multiproteico com uma ampla variedade de atividades proteolíticas que é encontrado no citoplasma da maioria das células e gera, a partir de proteínas citosólicas, peptídeos que se ligam às moléculas do MHC de classe I. As proteínas são alvo para degradação pelo proteassomo através da ligação covalente de moléculas de ubiquitina.

Proteína adaptadora Proteínas envolvidas nas vias de transdução de sinal intracelulares por servirem como moléculas-ponte ou base para o recrutamento de outras moléculas sinalizadoras. Durante a sinalização do receptor antigênico em linfócito ou receptor de citocina, as moléculas adaptadoras podem ser fosforiladas nos

resíduos de tirosina para permitir que elas se liguem a outras moléculas contendo domínios Src homologia 2 (SH2). As moléculas adaptadoras envolvidas na ativação da célula T incluem LAT, SLP-76 e Grb-2.

Proteína amiloide A sérica (SAA, do inglês, *serum amyloid A*) Proteína de fase aguda cujas concentrações séricas aumentam significativamente em quadros infecciosos e inflamatórios, principalmente por causa da síntese de IL-1 e TNF pelo fígado. A SAA ativa a quimiotaxia de leucócitos, a fagocitose e a adesão às células endoteliais.

Proteína C-reativa (CRP, do inglês, *C-reactive protein*) Membro da família da pentraxina de proteínas plasmáticas envolvida nas respostas imunes inatas às infecções bacterianas. A CRP é um reagente de fase aguda e se liga à cápsula de bactérias pneumococos. A CRP também se liga a C1q e pode, assim, ativar o complemento ou agir como uma opsonina pela interação com receptores de C1q nos fagócitos. Aumento de CRP sérico é um marcador de inflamação.

Proteína de 70 kDa associada a zeta (ZAP-70, do inglês, *zeta-associated protein of 70 kD*) Tirosina quinase proteica citoplasmática, similar ao Syk nas células B, que é crucial para as etapas iniciais da sinalização na ativação da célula T induzida pelo antígeno. A ZAP-70 liga-se às tirosinas fosforiladas nas caudas citoplasmáticas da cadeia ζ e cadeia CD3 do complexo TCR que, por sua vez, fosforilam proteínas adaptadoras que recrutam outros componentes da cascata de sinalização.

Proteína de ativação 1 (AP-1, do inglês, *activation protein 1*) Família de fatores de transcrição de ligação ao DNA composta de dímeros de duas proteínas que se ligam uma a outra através do motivo estrutural compartilhado denominada zíper de leucina. O fator AP-1 mais bem caracterizado é composto das proteínas Fos e Jun. A AP-1 está envolvida na regulação transcricional de muitos genes diferentes que são importantes no sistema imune, tais como os genes das citocinas.

Proteina quinase C (PKC, do inglês, *protein kinase C*) Qualquer uma dentre várias isoformas de uma enzima que medeia a fosforilação de resíduos de serina e treonina em muitos substratos proteicos diferentes e, desse modo, serve para propagar várias vias de transdução de sinal levando à ativação de fatores de transcrição. Nos linfócitos T e B, a PKC é ativada pelo DAG, o qual é gerado em resposta à ligação do receptor antigênico.

Proteínas da família Bcl-2 Família de proteínas de membrana citoplasmáticas e mitocondriais parcialmente homólogas que regulam a apoptose por influenciar a permeabilidade da membrana externa mitocondrial. Os membros dessa família podem ser pró-apoptóticos (tais como Bax, Bad e Bak) ou antiapoptóticos (tais como Bcl-2 e Bcl-X_L).

Proteínas de fase aguda Proteínas, a maioria sintetizada no fígado em resposta a citocinas inflamatórias, tais como IL-1, IL-6 e TNF, cujas concentrações plasmáticas aumentam lentamente após a infecção como parte da síndrome da resposta inflamatória sistêmica. Exemplos incluem proteína C-reativa, fibrinogênio e proteína amiloide sérica A. Os reagentes de fase aguda desempenham vários papéis na resposta imune inata aos microrganismos. Também chamadas de reagentes de fase aguda.

Proteínas G Proteínas que se ligam a nucleotídeos guanilil e atuam como trocadores de moléculas catalisando a substituição de guanosina difosfato ligada (GDP) por guanosina trifosfato (GTP). As proteínas G com GTP ligado podem ativar uma variedade de enzimas celulares em diferentes cascatas de sinalização. As proteínas triméricas ligadas ao GTP estão associadas às porções citoplasmáticas de muitos receptores de superfície celular, tais como os receptores de quimiocinas. Outras pequenas proteínas G solúveis, tais como Ras e Rac, são recrutadas para as vias de sinalização por proteínas adaptadoras.

Protozoários Organismos eucarióticos unicelulares, muitos dos quais são parasitas de humanos e causam doença. Exemplos de protozoários patogênicos incluem *Entamoeba histolytica,* que causa

desinteria amebíaca; *Plasmodium,* que causa a malária; e *Leishmania,* que causa a leishmaniose. Os protozoários estimulam tanto respostas imunes inata quanto adaptativa. O desenvolvimento de vacinas efetivas contra muitos desses organismos tem se mostrado difícil.

Prova cruzada Teste de triagem realizado para minimizar a chance de reações adversas na transfusão ou rejeição a enxertos, no qual um paciente que necessita de transfusão de sangue ou transplante de órgão é testado para a presença de anticorpos pré-formados contra antígenos de superfície celular do doador (normalmente antígenos de grupo sanguíneo ou antígenos do MHC). O teste envolve a mistura de soro do receptor com leucócitos ou hemácias do potencial doador e análise da aglutinação ou da lise das células dependente do complemento.

Provírus Cópia de DNA do genoma de um retrovírus que é integrado no genoma da célula do hospedeiro e a partir da qual os genes virais são transcritos e o genoma viral é reproduzido. Os provírus de HIV podem permanecer inativos por longos períodos e, desse modo, representam uma forma latente de infecção pelo HIV que não é acessível à defesa imune.

Quimiocinas Grande família de citocinas de baixo peso molecular estruturalmente homólogas que estimulam a quimiotaxia de leucócitos, regulam a migração de leucócitos do sangue para os tecidos pela ativação de integrinas leucocitárias e mantém a organização espacial de diferentes subpopulações de linfócitos e células apresentadoras de antígenos dentro dos órgãos linfoides.

Quimiotaxia Movimento de uma célula direcionada por um gradiente de concentração química. O movimento dos leucócitos no interior dos vários tecidos é frequentemente direcionado por gradientes de citocinas de baixo peso molecular chamadas de quimiocinas.

Quinases da família Src Família de tirosina quinases proteicas, homólogas à tirosina quinase Src, a qual nas células imunes, inicia a sinalização *downstream* dos receptores imunes pela fosforilação

de resíduos de tirosina nos motivos ITAM. Lck e Lyn são proeminentes quinases da família Src em células T e B, respectivamente.

Radioimunoensaio Método imunológico altamente sensível e específico de quantificação da concentração de um antígeno em uma solução que depende de um anticorpo marcado radioativamente e específico para o antígeno. Normalmente, dois anticorpos específicos para o antígeno são usados. O primeiro anticorpo não está marcado, mas ligado a um suporte sólido, onde ele se liga e imobiliza o antígeno cuja concentração está sendo determinada. A quantidade do segundo anticorpo, marcado, que se liga ao antígeno imobilizado, como determinado pelos detectores de decaimento radioativo, é proporcional à concentração de antígeno na solução teste.

Rapamicina Droga imunossupressora (também chamada de sirolimus) usada clinicamente para prevenir a rejeição a aloenxertos. A rapamicina inibe a ativação de uma proteína chamada de alvo molecular da rapamicina (mTOR, do inglês, *molecular target of rapamicin*), a qual é uma molécula-chave da sinalização em uma variedade de vias metabólicas e de crescimento celular incluindo a via necessária para a proliferação de célula T mediada pela interleucina-2.

Ras Membro de uma família de proteínas ligantes do nucleotídeo guanina de 21 kDa com atividade GTPásica intrínseca que está envolvido em muitas vias de transdução de sinal diferentes em diversos tipos celulares. Os genes *ras* mutados estão associados à transformação neoplásica. Na ativação da célula T, Ras é recrutado para a membrana plasmática por proteínas adaptadoras fosforiladas na tirosina, onde é ativado por fatores de troca GDP-GTP. GTP Ras inicia então a cascata da MAP quinase, a qual leva à expressão do gene *fas* e montagem do fator de transcrição AP-1.

Reação de Arthus Forma localizada de vasculite experimental mediada por imunocomplexos induzida pela injeção subcutânea de um antígeno em um animal previamente imunizado ou em um

animal que tenha recebido o anticorpo específico para o antígeno intravenosamente. Os anticorpos circulantes ligam-se ao antígeno injetado e formam imunocomplexos que são depositados nas paredes das pequenas artérias do sítio da injeção e iniciam uma vasculite cutânea local com necrose.

Reação de fase tardia Componente da reação de hipersensibilidade imediata que ocorre 2 a 4 horas após a desgranulação dos mastócitos e que se caracteriza por um infiltrado inflamatório de eosinófilos, basófilos, neutrófilos e linfócitos. Crises repetidas dessa reação inflamatória de fase tardia podem causar dano tecidual.

Reação de pápula e eritema Inchaço e vermelhidão local na pele no sítio de uma reação de hipersensibilidade imediata. A pápula reflete aumento na permeabilidade vascular e o eritema resulta do fluxo sanguíneo local aumentado, ambas as alterações resultantes de mediadores como a histamina liberada de mastócitos dérmicos ativados.

Reação de Shwartzman Modelo experimental dos efeitos patológicos do LPS bacteriano e do TNF no qual duas injeções intravenosas de LPS são administradas a um coelho em um intervalo de 24 horas. Após a segunda injeção, o coelho sofre coagulação intravascular disseminada e obstrução dos pequenos vasos sanguíneos por neutrófilos e plaquetas.

Reação em cadeia da polimerase (PCR, do inglês, *polymerase chain reaction*) Método rápido de copiar e amplificar sequências específicas de DNA com até 1 kb de comprimento que é amplamente usado como técnica preparativa e analítica em todas os ramos da biologia molecular. O método se baseia no uso de pequenos *primers* de oligonucleotídeos complementares às sequências nas terminações do DNA a serem amplificadas e envolve ciclos repetidos de fusão, anelamento e síntese do DNA.

Reação mista de leucócitos (MLR, do inglês, *mixed leukocyte reaction*) Reação *in vitro* de células T alorreativas de um indivíduo contra antígenos do MHC nas células sanguíneas de

outro indivíduo. A MLR envolve a proliferação e secreção de citocina por ambas as células T $CD4^+$ e $CD8^+$.

Reações transfusionais Reação imunológica contra produtos sanguíneos transfundidos, normalmente mediada por anticorpos pré-formados no receptor que se ligam aos antígenos das células sanguíneas do doador, tais como antígenos do grupo sanguíneo ABO ou antígenos de histocompatibilidade. As reações transfusionais podem causar lise intravascular de hemácias e, em casos graves, dano renal, febre, choque e coagulação intravascular disseminada.

Reagina Anticorpo IgE que medeia uma reação de hipersensibilidade imediata.

Receptor antigênico quimérico (CAR, do inglês, *chimeric antigen receptor*) Receptores geneticamente projetados com sítios tumorais antígeno-específicos codificados por genes recombinantes variáveis de Ig e por caudas citoplasmáticas contendo domínios tanto de TCR quando de receptores coestimuladores. Quando as células T são projetadas para expressar receptores antigênicos quiméricos, essas células podem reconhecer e matar células reconhecidas pelo domínio extracelular. A transferência adotiva de células T expressando CARs tem sido usada com sucesso no tratamento de certos tipos de câncer.

Receptor da célula B (BCR, do inglês, *B cell receptor*) Receptor antigênico da superfície celular nos linfócitos B, o qual é uma molécula de imunoglobulina ligada à membrana.

Receptor de célula pré-B Receptor expresso em linfócitos B em desenvolvimento no estágio de célula pré-B que é constituído por cadeias pesadas μ de Ig e cadeias leves substitutas invariáveis. O receptor de célula pré-B se associa a proteínas de transdução de sinal Igα e Igβ para formar o complexo do receptor de célula pré-B. Os receptores de célula pré-B são necessários para a estimulação da proliferação e maturação continuada da célula B em desenvolvimento, atuando como um ponto de controle que

garante um rearranjo VDJ produtivo da cadeia pesada μ. Não é conhecido se o receptor da célula pré-B se liga a um ligante específico.

Receptor de célula pré-T Receptor expresso em na superfície de células pré-T que é composto da cadeia β do TCR e da proteína invariante pré-T α. Esse receptor se associa a moléculas CD3 e ζ para formar o complexo do receptor de célula pré-T. A função deste complexo é semelhante àquela do receptor de célula pré-B na célula B em desenvolvimento, ou seja, o envio de sinais que intensificam o estímulo à proliferação, à reorganização do gene do receptor antigênico e a outros eventos da maturação. Não é conhecido se o receptor de célula pré-T se liga a um ligante específico.

Receptor de célula T (TCR, do inglês, *T cell receptor*) Receptor de antígeno clonalmente distribuído nos linfócitos T $CD4^+$ e $CD8^+$ que reconhecem complexos de peptídeos estranhos ligados às moléculas de MHC próprias na superfície das APCs. A forma mais comum de TCR é composta de um heterodímero de duas cadeias polipeptídicas transmembranares ligadas por pontes dissulfeto, designadas α e β, cada uma contendo um domínio N-terminal variável (V) do tipo Ig, um domínio constante (C) tipo Ig, uma região transmembranar hidrofóbica e uma região citoplasmática curta. (Outro tipo menos comum de TCR, composto de cadeias γ e δ, é encontrado em uma pequena subpopulação de células T que reconhece diferentes formas de antígeno.)

Receptor de *homing* Moléculas de adesão expressas na superfície dos linfócitos que são responsáveis pelas diferentes vias de recirculação de linfócitos e *homing* tecidual. Os receptores de *homing* ligam-se a ligantes (adressinas) expressos nas células endoteliais em leitos vasculares particulares.

Receptor de manose Receptor ligante de carboidrato (lectina) expresso pelos macrófagos que se liga a resíduos de manose e fucose nas paredes celulares bacterianas e medeia a fagocitose dos organismos.

Receptor do complemento tipo 1 (CR1, do inglês, *complement receptor 1*) Receptor para os fragmentos C3b e C4b do complemento. Os fagócitos utilizam o CR1 para mediar a internalização das partículas recobertas por C3b ou por C4b. O CR1 nos eritrócitos atua na eliminação de imunocomplexos da circulação. O CR1 também é um regulador da ativação do complemento.

Receptor do complemento tipo 2 (CR2, do inglês, *complement receptor 2*) Receptor expresso nas células B e células dendríticas foliculares que se ligam aos fragmentos proteolíticos da proteína C3 do complemento, incluindo C3d, C3dg e iC3b. O CR2 atua para estimular as respostas imunes humorais por meio do aumento na ativação da célula B pelo antígeno e promovendo sequestro dos complexos antígeno-anticorpo nos centros germinativos. O CR2 é também o receptor para o vírus Epstein-Barr.

Receptor Fc Receptor da superfície celular específico para a região constante carboxiterminal da uma molécula de Ig. Os receptores de Fc são tipicamente complexos proteicos multicadeia que incluem componentes da sinalização e componentes ligantes de Ig. Existem diversos tipos de receptores de Fc, incluindo aqueles específicos para diferentes isotipos de IgG, IgE e IgA. Os receptores de Fc medeiam muitas das funções efetoras dos anticorpos dependentes de células, incluindo a fagocitose de antígenos ligados ao anticorpo, ativação de mastócitos induzida pelo antígeno e ligação, direcionamento e ativação de células NK.

Receptor Fc neonatal (FcRn, do inglês, *neonatal Fc receptor*) Receptor Fc específico para IgG que medeia o transporte de IgG materna através da placenta e do epitélio intestinal neonatal e, em adultos, promove longa meia-vida das moléculas de IgG no sangue, protegendo-as do catabolismo pelos fagócitos e células endoteliais.

Receptor Fcγ (FcγR, do inglês, *Fcγ receptor*) Receptor específico da superfície celular para a região constante carboxiterminal das moléculas de IgG. Há diferentes tipos de receptores de Fcγ,

incluindo FcγRI de alta afinidade que medeia a fagocitose pelos macrófagos e neutrófilos, um FcγRIIB de baixa afinidade que transduz sinais inibitórios nas células B e células mieloides e um FcγRIIIA de baixa afinidade que medeia o direcionamento e ativação das células NK.

Receptor poli-Ig Receptor Fc expresso pelas células da mucosa epitelial que medeiam o transporte de IgA e IgM através das células epiteliais para dentro do lúmen intestinal.

Receptor αβ da célula T (TCR αβ, do inglês, *αβ T cell receptor*) Forma mais comum de TCR, expresso tanto em células T $CD4^+$ quanto $CD8^+$. O TCR αβ reconhece antígenos peptídicos ligados a uma molécula de MHC. Ambas as cadeias, α e β, contêm regiões altamente variáveis (V) que juntas formam os sítios de ligação ao antígeno, assim como regiões constantes (C). As regiões V e C do TCR são estruturalmente homólogas às regiões V e C das moléculas de Ig.

Receptor γδ de célula T (γδ TCR, do inglês, *γδ T cell receptor*) Forma de TCR que é distinta do mais comum TCR αβ e é expressa em uma subpopulação de células T encontrada principalmente nos tecidos das barreiras epiteliais. Embora o TCR γδ seja estruturalmente similar ao TCR αβ, as formas de antígenos reconhecidas pelos TCRs γδ são pobremente entendidas; eles não reconhecem complexos peptídicos ligados às moléculas de MHC polimórficas.

Receptores de célula *killer* do tipo Ig (KIRs, do inglês, *killer cell Ig-like receptors*) Receptores da superfamília de Ig expressos pelas células NK que reconhecem diferentes alelos das moléculas de HLA-A, HLA-B e HLA-C. Alguns KIRs possuem componentes de sinalização com ITIMs em suas caudas citoplasmáticas e estes transmitem sinais inibitórios para inativar as células NK. Alguns membros da família dos KIR possuem caudas citoplasmáticas curtas sem ITIMs, mas associadas a outros polipeptídeos contendo ITAMs e atuam como receptores de ativação.

Receptores de morte Receptores de membrana plasmática expressos em vários tipos celulares que, sob ligação do ligante, transduzem

sinais que levam ao recrutamento da proteína associada ao Fas com a proteína adaptadora de domínio de morte (FADD, do inglês, *Fas-associated protein with death domain*), a qual ativa a caspase-8, induzindo a morte celular apoptótica. Todos os receptores de morte, incluindo Fas, TRAIL e TNFR, pertencem à superfamília de receptor de TNF.

Receptores de quimiocinas Receptores da superfície celular para quimiocinas que transduzem sinais que estimulam a migração de leucócitos. Há pelo menos 19 diferentes receptores de quimiocinas, cada qual liga um grupo diferente de quimiocinas; todos são membros da família de receptores acoplados a proteínas G, com sete α-hélices transmembranares.

Receptores de reconhecimento de padrão Receptores de sinalização do sistema imune inato que reconhecem PAMPs e DAMPs e, dessa forma, ativam as respostas imunes inatas. Exemplos incluem receptores do tipo *Toll* (TLRs, do inglês, *Toll-like receptors*) e receptores do tipo NOD (NLRs, do inglês, *NOD-like receptors*).

Receptores do tipo NOD (NLRs, do inglês, *NOD-like receptors*) Família de proteínas citosólicas multidomínio que percebem PAMPs e DAMPs citoplasmáticos e recrutam outras proteínas para formar complexos de sinalização que promovem a inflamação.

Receptores do tipo RIG (RLRs, do inglês, *RIG-like receptors*) Receptores citosólicos do sistema imune inato que reconhecem o RNA viral e induzem a produção de interferons do tipo I. Os dois RLRs mais bem caracterizados são o RIG-I (gene I induzível pelo ácido retinoico) e o MDA5 (gene associado à diferenciação de melanoma 5).

Receptores do tipo *Toll* (TLR, do inglês, *Toll-like receptors*) Família de receptores de reconhecimento de padrão do sistema imune inato que são expressos na superfície e nos endossomos de muitos tipos celulares e que reconhecem estruturas microbianas, tais como endotoxina e RNA viral, e transduzem sinais que levam à expressão de genes inflamatórios e antivirais.

Receptores *scavenger* Família de receptores da superfície celular expressos em macrófagos, originalmente definidos como receptores que medeiam a endocitose de partículas de lipoproteína de baixa densidade oxidadas ou acetiladas, mas que também se ligam e medeiam a fagocitose de uma variedade de microrganismos.

Recirculação de linfócitos Movimento contínuo de linfócitos *naive* do sangue para órgãos linfoides secundários e de volta para o sangue.

Recombinação de troca Mecanismo molecular subjacente de troca do isotipo de Ig no qual um semento gênico VDJ em uma célula B produtora de anticorpo se recombina com um gene C *downstream* e o gene ou genes C intervenientes são deletados. Os eventos de recombinação de DNA na recombinação de troca são disparados por CD40 e citocinas e envolvem sequências de nucleotídeos denominadas regiões de troca, localizadas nos íntrons da terminação 5′ de cada *locus* C_H.

Recombinação somática Processo de recombinação do DNA pelo qual os genes funcionais que codificam as regiões variáveis de receptores antigênicos são formados durante o desenvolvimento do linfócito. Um grupo relativamente limitado de sequências de DNA herdadas, ou da linhagem germinativa, que estão inicialmente separadas umas das outras são unidas por deleção enzimática das sequências intervenientes e religação. Esse processo ocorre somente nos linfócitos B ou linfócitos T em desenvolvimento e é mediado pelas proteínas RAG-1 e RAG-2. Este processo é também chamado de **recombinação V(D)J**.

Recombinase V(D)J Complexo de proteínas RAG-1 e RAG-2 que catalisa a recombinação do gene do receptor antigênico do linfócito.

Região constante (C) Porção das cadeias polipeptídicas da Ig ou do TCR cuja sequência não varia entre diferentes clones e não está envolvida na ligação ao antígeno.

Região da dobradiça Região das cadeias pesadas de Ig entre os dois primeiros domínios constantes que podem assumir múltiplas conformações, conferindo, desse modo, flexibilidade na orientação dos dois sítios de ligação ao antígeno. Graças à região da dobradiça, uma molécula de anticorpo pode ligar simultaneamente a dois epítopos que estão em qualquer local dentro do alcance da distância uma da outra.

Região determinante de complementariedade (CDR, do inglês, *complementarity-determining region*) Segmentos curtos de proteínas de Ig e de TCR que contêm a maior parte das diferenças na sequência entre os distintos anticorpos ou TCRs e fazem contato com o antígeno; também chamada de **regiões hipervariáveis**. Três CDRs estão presentes no domínio variável de cada cadeia polipeptídica do receptor antigênico e seis CDRs estão presentes em uma molécula de Ig ou TCR intacta. Esses segmentos hipervariáveis assumem estruturas em alça que juntas formam uma superfície complementar às estruturas tridimensionais do antígeno ligado.

Região hipervariável Segmentos curtos de cerca de 10 resíduos de aminoácidos dentro das regiões variáveis das proteínas do anticorpo ou do TCR que formam estruturas em alça que entram em contato com o antígeno. Três alças hipervariáveis estão presentes em cada cadeia pesada e cadeia leve do anticorpo e em cada cadeia do TCR. A maior parte da variabilidade entre os diferentes anticorpos ou TCRs está localizada dentro destas alças (também chamada **região determinante de complementariedade** [CDR, do inglês, *complementarity-determining region*]).

Região variável Região N-terminal extracelular de uma cadeia pesada ou uma cadeia leve de Ig ou uma cadeia α, β, γ ou δ do TCR que contém sequências variáveis de aminoácidos que diferem entre cada clone de linfócitos e que são responsáveis pela especificidade ao antígeno. As sequências variáveis de ligação ao antígeno estão localizadas estruturas estendidas das alças ou segmentos hipervariáveis.

Regulador autoimune (AIRE, do inglês, *autoimune regulator*) Proteína que atua estimulando a expressão de antígenos proteicos de tecidos periféricos nas células epiteliais medulares tímicas. Mutações no gene *AIRE* em humanos e camundongos levam à doença autoimune tecido-específica decorrente de uma expressão defeituosa dos antígenos teciduais no timo e falha em deletar as células T ou em gerar algumas células T reguladoras para esses antígenos.

Rejeição aguda Forma de rejeição do enxerto envolvendo lesão vascular e parenquimal mediada por células T, macrófagos e anticorpos que normalmente ocorre dias ou semanas após o transplante, mas pode ocorrer tardiamente se a imunossupressão farmacológica se tornar inadequada.

Rejeição crônica Forma de rejeição do aloenxerto caracterizada por fibrose com perda das estruturas normais do órgão que ocorre durante um período prolongado. Em muitos casos, o principal evento patológico na rejeição crônica é a oclusão arterial do enxerto causada pela proliferação das células musculares lisas da íntima, a qual é chamada arteriosclerose do enxerto.

Rejeição de primeira fase Rejeição do aloenxerto em um indivíduo que não havia recebido previamente um enxerto ou, de outro modo, sido exposto a aloantígenos teciduais do mesmo doador. A rejeição de primeira fase normalmente demora aproximadamente 7 a 14 dias.

Rejeição de segunda fase Rejeição do aloenxerto em um indivíduo que foi previamente sensibilizado aos aloantígenos teciduais do doador por ter recebido outro enxerto ou transfusão desse doador. Ao contrário da rejeição de primeira fase, a qual ocorre em um indivíduo que não foi previamente sensibilizado pelos aloantígenos do doador, a rejeição de segunda fase é rápida e ocorre entre 3 a 7 dias como resultado da memória imunológica.

Rejeição do enxerto Resposta imune específica a um enxerto de órgão ou tecido que leva à inflamação, a dano e, possivelmente, à falha no enxerto.

Rejeição hiperaguda Forma de rejeição do aloenxerto ou do xenoenxerto que se inicia dentro de minutos a horas após o transplante e que é caracterizada por oclusão trombótica dos vasos do enxerto. A rejeição hiperaguda é mediada por anticorpos preexistentes na circulação do hospedeiro que se ligam aos antígenos endoteliais do doador, tais como antígenos de grupo sanguíneo ou moléculas de MHC e ativam o sistema complemento.

Repertório de anticorpos Coleção das diferentes especificidades dos anticorpos expressos em um indivíduo.

Repertório de linfócitos Coleção completa de receptores antigênicos e, portanto, de especificidades antigênicas expressas pelos linfócitos B e T de um indivíduo.

Resíduos de ancoramento Resíduos de aminoácidos de um peptídeo cujas cadeias laterais cabem dentro dos bolsos na fenda de ligação ao peptídeo de uma molécula de MHC. As cadeias laterais ligam-se aos aminoácidos complementares na molécula de MHC, servindo, dessa forma, para ancorar o peptídeo na fenda da molécula de MHC.

Resposta de fase aguda Aumento nas concentrações plasmáticas de diversas proteínas, denominadas reagentes de fase aguda, que ocorre como parte da fase inicial da resposta imune inata às infecções.

Resposta imune Resposta coletiva e coordenada à introdução de substâncias estranhas em um indivíduo mediada pelas células e moléculas do sistema imune.

Resposta imune primária Resposta imune adaptativa que ocorre após a primeira exposição de um indivíduo a um antígeno estranho. As respostas primárias são caracterizadas por uma cinética relativamente lenta e de pequena magnitude quando comparada às respostas após uma segunda ou subsequente exposição.

Resposta imune secundária Resposta imune adaptativa que ocorre na segunda exposição a um antígeno. Uma resposta secundária é caracterizada por uma cinética mais rápida e de maior magnitude em relação à resposta imune primária, a qual ocorre na primeira exposição.

Restrição ao MHC próprio Limitação (ou restrição) das células T em reconhecer antígenos mostrados pelas moléculas de MHC que a célula T encontra durante a maturação no timo (e assim as reconhece como MHC próprio).

Restrição do MHC Característica dos linfócitos T em que reconhecem apenas um antígeno peptídico estranho quando este está ligado a uma forma alélica particular de uma molécula de MHC.

RORγT (receptor órfão γ T relacionado ao ácido retinoico, do inglês, *retinoid-related orphan receptor γ T*) Fator de transcrição expresso nas células Th17 e necessário para a diferenciação dessas células e das células linfoides inatas do Tipo 3.

Sarcoma de Kaposi Tumor maligno de células vasculares que frequentemente surge em pacientes com AIDS. O sarcoma de Kaposi está associado à infecção pelo herpesvírus associado ao sarcoma de Kaposi (herpesvírus humano 8).

Segmentos de diversidade (D) Sequências codificadoras curtas entre os segmentos gênicos variável (V) e constante (C) nos *loci* de cadeia pesada de Ig e β e γ do TCR, que juntos com os segmentos J, são recombinados somaticamente com os segmentos V durante o desenvolvimento dos linfócitos. O DNA VDJ recombinado resultante codifica as extremidades carboxil-terminais das regiões V do receptor antigênico, incluindo as terceiras regiões hipervariáveis (CDR, do inglês, *complementarity-determining region)*. O uso aleatório dos segmentos D contribui para a diversidade do repertório do receptor antigênico.

Segmentos gênicos C (região constante, do inglês, *constant region*) Sequências de DNA nos *loci* do gene *Ig* e *TCR* que codificam as

porções não variáveis das cadeias pesada e leve da Ig e das cadeias α, β, γ e δ do TCR.

Segmentos gênicos V Sequência de DNA que codifica o domínio variável das cadeias leve ou pesada de uma Ig ou uma cadeia α, β, γ ou δ de um TCR. Cada *locus* do receptor antigênico contém muitos segmentos gênicos V diferentes, qualquer um deles podendo recombinar com segmentos D ou J *downstream* durante a maturação do linfócito para formar genes funcionais do receptor antigênico.

Segmentos juncionais (J) Sequências codificadoras curtas entre os segmentos gênicos variável (V) e constante (C) em todos os *loci* de Ig e do TCR, os quais juntos com os segmentos D, são recombinados somaticamente com os segmentos V durante o desenvolvimento dos linfócitos. O DNA VDJ recombinado resultante codifica as extremidades carboxil-terminais das regiões V do receptor antigênico, incluindo as terceiras regiões hipervariáveis (CDR, do inglês, *complementarity-determining region)*. O uso aleatório dos segmentos J contribui para a diversidade do repertório do receptor antigênico.

Seleção negativa Processo pelo qual os linfócitos em desenvolvimento que expressam os receptores antigênicos autorreativos são eliminados, contribuindo, desse modo, para a manutenção da autotolerância. A seleção negativa dos linfócitos T em desenvolvimento (timócitos) é mais bem entendida e envolve ligação de alta avidez de um timócito às moléculas de MHC próprias com peptídeos ligados nas APCs tímicas, levando à morte apoptótica do timócito.

Seleção positiva Processo pelo qual células T em desenvolvimento no timo (timócitos) cujos TCRs se ligam às moléculas de MHC próprias são resgatadas da morte celular programada, enquanto os timócitos cujos receptores não reconhecem as moléculas de MHC próprias morrem por negligência. A seleção positiva garante que as células T maduras são restritas ao MHC próprio e que as células T $CD8^+$ são específicas para complexos de

peptídeos com moléculas do MHC de classe I e as células T $CD4^+$, para complexos de peptídeos com moléculas do MHC de classe II.

Selectina Qualquer uma de três proteínas ligantes de carboidrados independentes, mas proximamente relacionadas, que medeiam a adesão de leucócitos às células endoteliais. Cada uma das moléculas de selectina é uma glicoproteína transmembranar de cadeia única com uma estrutura semelhante, incluindo um domínio lectina extracelular dependente de cálcio. As selectinas incluem a L-selectina (CD62L), expressa nos leucócitos; a P-selectina (CD62P), expressa nas plaquetas e no endotélio ativado; e a E-selectina (CD62E), expressa no endotélio ativado.

Sensibilidade de contato Estado de responsividade imune a certos agentes químicos que leva a reações de hipersensibilidade do tipo retardada mediada por células T após contato com a pele. Substâncias que elicitam sensibilidade de contato, incluindo íons de níquel, urishiol de hera venenosa e muitas drogas terapêuticas, ligam-se às proteínas próprias nas superfícies das APCs e as modificam, as quais são então reconhecidas pelas células $CD4^+$ ou $CD8^+$.

Sensores de DNA citosólico (CDSs, do inglês, *cytosolic DNA sensors*) Moléculas que detectam DNA microbiano de dupla fita no citosol e ativa vias de sinalização que iniciam resposta antimicrobianas, incluindo a produção de interferon do tipo I e autofagia.

Separação celular ativada por fluorescência (FACS, do inglês, *fluorescence-activated cell sorter*) Adaptação do citômetro de fluxo que é utilizada para a purificação de células a partir de uma população mista, de acordo com qual sonda fluorescente e com quanto da sonda a célula se liga. As células são primeiramente marcadas com uma sonda fluorescente, tal como um anticorpo específico para um antígeno de superfície de uma população celular. As células são então adquiridas individualmente por um fluorímetro com um feixe de laser incidente e desviadas para diferentes tubos de coleta por meio de campos eletromagnéticos

cuja força e direção variam de acordo com a intensidade do sinal de fluorescência medido.

Sequências sinal de recombinação Sequências específicas de DNA encontradas adjacentes aos segmentos V, D e J nos *loci* do receptor antigênico e reconhecidas pelo complexo RAG-1/RAG-2 durante a recombinação V(D)J. As sequências de reconhecimento consistem em uma extensão de 7 nucleotídeos altamente conservados, chamado de heptâmero, localizado adjacente à sequência codificadora V, D, ou J, seguida por um espaçador de exatamente 12 ou 23 nucleotídeos não conservados e uma extensão de 9 nucleotídeos altamente conservados, chamado de nonâmero.

Sinapse imunológica Grupo de proteínas de membrana que se organizam no ponto de justaposição entre uma célula T e uma célula apresentadora de antígeno, incluindo o completo TCR, CD4 ou CD8, receptores coestimuladores e integrinas da célula T, os quais ligam aos complexos peptídeo-MHC, coestimuladores e ligantes de integrinas da célula apresentadora de antígeno. A sinapse imunológica é necessária para as respostas funcionais bidirecionais entre a célula T e a APC e aumenta a transmissão de produtos secretados da célula T para a célula apresentadora de antígeno, tais como conteúdos dos grânulos de um CTL para sua célula-alvo.

Síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS, do inglês, *adquired immunodeficiency syndrome*) Doença causada pela infecção com o vírus da imunodeficiência humana (HIV) que é caracterizada pela depleção de células T $CD4^+$, levando a um profundo defeito na imunidade mediada por células. Clinicamente, a AIDS inclui infecções oportunísticas, tumores malignos, fraqueza e encefalopatia.

Síndrome da resposta inflamatória sistêmica (SIRS, do inglês, *systemic inflammatory response syndrome*) Alterações sistêmicas observadas em pacientes que têm infecções bacterianas disseminadas e outras condições que induzem inflamação generalizada. Em sua forma branda, a SIRS consiste em neutrofilia, febre e aumento nos reagentes de fase aguda no

plasma. Essas alterações são estimuladas pelos produtos bacterianos tais como o LPS e são mediadas por citocinas do sistema imune inato. Em casos graves, a SIRS pode incluir coagulação intravascular disseminada, síndrome do desconforto respiratório do adulto e choque.

Síndrome de Chédiak-Higashi Rara doença de imunodeficiência autossômica recessiva causada por um defeito nos grânulos citoplasmáticos de vários tipos celulares que afetam os lisossomos de neutrófilos e macrófagos, assim como os grânulos de CTLs e células NK. Os pacientes mostram resistência reduzida à infecção com bactérias piogênicas.

Síndrome de DiGeorge Deficiência seletiva de célula T causada por malformação congênita que resulta em defeito no desenvolvimento do timo, das glândulas paratiroides e de outras estruturas que emergem da terceira e quarta bolsas faríngeas.

Síndrome de hiper-IgM ligada ao X Rara doença de imunodeficiência causada por mutações no gene do ligante de CD40 e caracterizada pela falha na troca de isotipo de cadeia pesada da célula B e na imunidade mediada por células. Os pacientes sofrem tanto de infecções bacterianas piogênicas quanto por protozoários.

Síndrome de Wiskott-Aldrich Doença ligada ao X caracterizada por eczema, trombocitopenia (plaquetas sanguíneas reduzidas) e imunodeficiência, manifestada pela suscetibilidade a infecções bacterianas. O gene defeituoso codifica uma proteína citosólica envolvida nas cascatas de sinalização e regulação da actina do citoesqueleto.

Síndrome do choque tóxico Doença aguda caracterizada por choque, esfoliação cutânea, conjuntivite e diarreia que está associada ao uso de tampão e é causada por um superantígeno de *Staphylococcus aureus*.

Síndrome do linfócito nu Doença de imunodeficiência caracterizada pela perda da expressão das moléculas do MHC de classe II que leva a defeitos na apresentação de antígenos e na imunidade

mediada por células. A doença é causada por mutações nos genes que codificam fatores que regulam a transcrição dos genes do MHC de classe II.

Singênico Geneticamente idêntico. Todos os animais de uma linhagem consaguínea e gêmeos monozigóticos são singênicos.

Sistema imune Moléculas, células, tecidos e órgãos que atuam coletivamente para prover imunidade ou proteção, contra organismos estranhos.

Sistema imune cutâneo Componentes do sistema imune inato e adaptativo encontrados na pele e que atuam juntos de forma especializada para detectar e responder aos patógenos sobre e dentro da pele para manter a homeostasia com os microrganismos comensais. Componentes do sistema imune cutâneo incluem queratinócitos, células de Langerhans, células dendríticas dérmicas, linfócitos intraepiteliais e linfócitos dérmicos.

Sistema imune da mucosa Parte do sistema imune que responde e protege contra microrganismos que entram no corpo através de superfícies mucosas, tais como os tratos gastrintestinal e respiratório, mas que também mantém a tolerância aos organismos comensais que vivem no lado externo do epitélio de mucosa. O sistema imune de mucosa é constituído por tecidos linfoides associado à mucosa organizados, tais como as placas de Peyer, assim como as células difusamente distribuídas dentro da lâmina própria.

Sistema linfático Sistema de vasos ao longo do corpo e que coleta fluidos teciduais chamados de linfa, originalmente derivados do sangue e os retorna, através do ducto torácico, para a circulação. Os linfonodos estão intercalados ao longo desses vasos prendendo e retendo antígenos presentes na linfa.

Sítio imunologicamente privilegiado Região no corpo que é inacessível às respostas imunes ou suprime constitutivamente essas respostas. A câmara anterior do olho, os testículos e o cérebro são exemplos de sítios imunologicamente privilegiados.

Soro Fluido livre de células que permanece quando o sangue ou o plasma formam um coágulo. Os anticorpos sanguíneos são encontrados na fração sérica.

Soroconversão Produção de anticorpos detectáveis no soro e específicos para um microrganismo durante o curso de uma infecção ou na resposta à imunização.

Sorologia Estudo dos anticorpos sanguíneos (séricos) e suas reações com antígenos. O termo *sorologia* é frequentemente utilizado para se referir ao diagnóstico de doenças infecciosas pela detecção de anticorpos específicos para o microrganismo no soro.

Sorotipo Subgrupo antigenicamente distinto de uma espécie de organismo infeccioso que é distinguível de outros subgrupos por testes sorológicos (i.e., anticorpo sérico). As respostas imunes humorais a um sorotipo de microrganismo (p. ex.: vírus da influenza) podem não ser protetoras contra outro sorotipo.

STING (estimulador de genes IFN, do inglês, *stimulator of IFN genes*) Proteína adaptadora localizada na membrana do retículo endoplasmático, a qual é utilizada por diversas moléculas sensoras de DNA para transduzir sinais que ativam o fator de transcrição IRF3, levando a expressão do gene de IFN do tipo I.

Superantígenos Proteínas que se ligam e ativam todas as células T em um indivíduo que expressa um grupo ou família particular de genes *TCR* Vβ. Os superantígenos são apresentados às células T pela ligação a regiões não polimórficas das moléculas do MHC de classe II nas APCs e interagem com regiões conservadas dos domínios Vβ do TCR. Diversas enterotoxinas estafilocócicas são superantígenos. Sua importância reside na capacidade de ativar muitas células T, o que resulta em grandes quantidades de citocinas produzidas e em uma síndrome clínica que é similar ao choque séptico.

Superfamília de imunoglobulinas Grande família de proteínas que contém um motivo estrutural globular denominado domínio de Ig, ou dobra de Ig, originalmente descrito em anticorpos. Muitas

proteínas de importância no sistema imune, incluindo anticorpos, TCRs, moléculas do MHC, CD4 e CD8, são membros dessa superfamília.

Superfamília do fator de necrose tumoral (TNFSF, do inglês, *tumor necrosis fator superfamily*) Grande família de proteínas transmembranares estruturalmente homólogas que regula diversas funções nas células respondedoras, incluindo proliferação, diferenciação, apoptose e expressão de genes inflamatórios. Os membros da TNFSF tipicamente formam homotrímeros, no interior da membrana plasmática ou após a liberação proteolítica da membrana e se ligam a moléculas da superfamília homotrimérica do receptor de TNF (TNFRSF), as quais então iniciam uma variedade de vias de sinalização (ver Apêndice I).

Superfamília do receptor do fator de necrose tumoral (TNFRSF, do inglês, *tumor necrosis factor receptor superfamily*) Grande família de proteínas transmembranares estruturalmente homólogas que liga proteínas TNFSF e gera sinais que regulam a proliferação, diferenciação, apoptose e expressão de genes inflamatórios (ver Apêndice I).

Syk Tirosina quinase proteica citoplasmática, semelhante ao ZAP-70 nas células T, que é crucial para os passos iniciais da sinalização na ativação da célula B induzida pelo antígeno. O Syk liga-se às tirosinas fosforiladas nas caudas citoplasmáticas das cadeias de Igα e Igβ do complexo BCR e, por sua vez, fosforila proteínas adaptadoras que recrutam outros componentes da cascata de sinalização.

T-bet Fator de transcrição da família T-box que promove a diferenciação das células Th1 a partir de células T *naive*.

Tecido linfoide associado à mucosa (MALT, do inglês, *mucosa-associated lymphoid tissue*) Coleção de linfócitos, células dendríticas e outros tipos celulares dentro da mucosa dos tratos gastrintestinal e respiratório que são sítios das respostas imunes adaptativas aos antígenos. Os tecidos linfoides associados à

mucosa contêm linfócitos intraepiteliais, principalmente células T, e coleções organizadas de linfócitos, frequentemente ricos em células B, sob o epitélio da mucosa, tais como as placas de Peyer no intestino ou as tonsilas faríngeas.

Tecido linfoide associado ao intestino (GALT, do inglês, *gut-associated lymphoid tissue*) Coleções de linfócitos e APCs dentro da mucosa do trato gastrintestinal onde são iniciadas as respostas imunes adaptativas à flora microbiana intestinal e aos antígenos ingeridos (ver também **tecidos linfoides associados à mucosa).**

Técnica de imunoperoxidase Técnica comum de imuno-histoquímica na qual um anticorpo acoplado a peroxidase de rabanete é usado para identificar a presença de um antígeno em um corte de tecido. A enzima peroxidase converte um substrato incolor a um produto marrom insolúvel que é observável em microscópio de luz.

Terapia antirretroviral (TAR) Quimioterapia combinada para infecção por HIV, normalmente consistindo em dois nucleosídeos inibidores da transcriptase reversa e um inibidor da protease viral ou um inibidor não nucleosídeo da transcriptase reversa. A ART pode reduzir os títulos virais plasmáticos a níveis abaixo dos detectáveis por mais de 1 ano e retarda a progressão do HIV doença. Também chamada de terapia antirretroviral altamente ativa (TARAA).

Tetrâmero de MHC Reagente utilizado para identificar e enumerar células T que reconhecem especificamente um complexo MHC-peptídeo particular. O reagente consiste em quatro moléculas de MHC recombinantes e biotiniladas (normalmente de classe I) ligadas a uma molécula de avidina marcada com um fluorocromo e carregada com um peptídeo. As células T que se ligam ao tetrâmero MHC podem ser detectadas por citometria de fluxo.

Timo Órgão bilobado, situado no mediastino anterior, que é o local de maturação dos linfócitos T oriundos de precursores derivados da medula óssea. O tecido tímico é dividido em um córtex externo e uma medula interna e contém células epiteliais tímicas,

macrófagos, células dendríticas e numerosos precursores de células T (timócitos) em vários estágios de maturação.

Timócito Precursor de um linfócito T maduro presente no timo.

Timócito simples-positivo Precursor de célula T em maturação no timo que expressa moléculas de CD4 ou CD8, mas não ambas. Os timócitos simples positivos são encontrados principalmente na medula e maturaram a partir do estágio duplo-positivo, durante o qual os timócitos expressam ambas as moléculas CD4 e CD8.

Timócitos duplo-negativos Subpopulação de células T em desenvolvimento no timo (timócitos) que não expressa CD4 ou CD8. A maioria dos timócitos duplo-negativos está em um estágio inicial de desenvolvimento e não expressa receptores antigênicos. Eles expressarão posteriormente tanto CD4 quanto CD8 durante o estágio intermediário duplo-positivo antes da maturação adicional a células T simples-positivas que expressam somente CD4 ou CD8.

Timócitos duplo-positivos Subpopulação de células T em desenvolvimento no timo (timócitos) que expressa CD4 e CD8 e estão em um estágio intermediário de desenvolvimento. Os timócitos duplo-positivos também expressam TCRs e estão sujeitos aos processos de seleção, maturando em células T simples-positivas e expressando somente CD4 ou CD8.

Tipagem tecidual Determinação de alelos particulares do MHC expressos por um indivíduo para fins de compatibilidade entre doadores e receptores de aloenxertos. A tipagem tecidual, também chamada de tipagem de HLA, é normalmente realizada por sequenciamento molecular (baseado em PCR) dos alelos de HLA ou por métodos sorológicos (lise de células de um indivíduo por painéis de anticorpos anti-HLA).

Tirosina quinase de Bruton (Btk, do inglês, *Bruton tyrosine kinase*) Família de tirosina quinases Tec essencial para a maturação da célula B. Mutações no gene que codifica a Btk causam agamaglobulinemia ligada ao X, uma doença caracterizada pela falha das células B em maturar além do estágio de célula pré-B.

Tirosina quinases proteicas (PTKs, do inglês, *protein tyrosine kinases*) Enzimas que medeiam a fosforilação de resíduos de tirosina presentes em proteínas e, desse modo, promovem interações proteína-proteína dependentes de fosfotirosina. As PTKs estão envolvidas em numerosas vias de tradução de sinal em células do sistema imune.

Tolerância Não responsividade do sistema imune adaptativo aos antígenos, como resultado da inativação ou morte de linfócitos antígeno-específicos, induzida pela exposição aos antígenos. A tolerância aos antígenos próprios é uma característica normal do sistema imune adaptativo, mas a tolerância aos antígenos estranhos pode ser induzida sob certas condições de exposição ao antígeno.

Tolerância central Forma de autotolerância induzida nos órgãos linfoides geradores (centrais) como uma consequência do reconhecimento, pelos linfócitos imaturos autorreativos, dos antígenos próprios e levando subsequentemente à sua morte ou inativação. A tolerância central previne a emergência dos linfócitos com receptores de alta afinidade para os antígenos próprios que são expressos na medula óssea ou no timo.

Tolerância imunológica Ver **tolerância**.

Tolerância oral Supressão das respostas imunes sistêmica humoral e mediada por célula a um antígeno após a administração oral daquele antígeno como um resultado da anergia de células T antígeno-específicas ou da produção de citocinas imunossupressoras, tais como o fator de transformação do crescimento-β. A tolerância oral é um possível mecanismo para a prevenção das respostas imunes aos antígenos alimentares e a bactérias que normalmente residem como comensais no lúmen intestinal.

Tolerância periférica Não responsividade aos antígenos próprios que estão presentes nos tecidos periféricos e não frequentemente nos órgãos linfoides geradores. A tolerância periférica é induzida pelo reconhecimento de antígenos sem os níveis adequados de

coestimuladores necessários para a ativação do linfócito ou pela estimulação persistente e repetida por esses autoantígenos.

Tolerógeno Antígeno que induz tolerância imunológica, em contraste a um imunógeno, o qual induz um resposta imune. Muitos antígenos podem ser tanto tolerógenos quanto imunógenos, dependendo de como eles são administrados. As formas tolerogênicas dos antígenos incluem grandes doses de proteínas administradas sem adjuvantes e antígenos administrados oralmente.

Tonsilas Tecidos linfoides secundários parcialmente encapsulados localizados sob a barreira epitelial na nasofaringe e orofaringe, incluindo as adenoides (tonsilas faríngeas), as tonsilas palatinas e as tonsilas linguais. Tonsilas são sítios de iniciação das respostas imune adaptativas a microrganismos nos tratos respiratório superior e alimentar.

Transcriptase reversa Enzima codificada por retrovírus, tais como o HIV, que sintetiza uma cópia de DNA do genoma viral a partir de um molde genômico de RNA. A transcriptase reversa purificada é amplamente utilizada na pesquisa em biologia molecular para fins de clonagem de DNAs complementares que codificam um gene de interesse a partir do RNA mensageiro. Os inibidores da transcriptase reversa são utilizados como drogas para tratar a infecção pelo HIV-1.

Transdutor de sinal e ativador de transcrição (STAT, do inglês, *signal transducer and activator of transcription*) Membro de uma família de proteínas que atuam como moléculas de sinalização e fatores de transcrição em resposta à ligação de citocinas aos receptores de citocinas do tipos I e do tipo II. Os STATs estão presentes como monômeros inativos no citosol das células e são recrutados para as caudas citoplasmáticas dos receptores de citocina de ligação cruzada, onde eles são fosforilados na tirosina pelas JAKs. As proteínas STAT fosforiladas dimerizam e movem-se para o núcleo, onde se ligam a sequências específicas nas regiões promotoras de vários genes e

estimulam sua transcrição. Diferentes STATs são ativados por citocinas distintas.

Transferência adotiva Processo de transferência de células de um indivíduo para outro ou de volta para o mesmo indivíduo após expansão e ativação *in vitro*. A transferência adotiva é usada na pesquisa para definir o papel de uma população celular em particular (p. ex.: células T) em uma resposta imune. Clinicamente, a transferência adotiva de linfócitos T específicos para o tumor e de células dendríticas apresentadoras de antígenos tumorais é usada na terapia do câncer, e a transferência de células T reguladoras está em desenvolvimento para doenças autoimunes e rejeição do enxerto.

Transfusão Transplante de células sanguíneas circulantes, plaquetas ou plasma de um indivíduo para outro. As transfusões são realizadas para tratar a perda sanguínea ocorrida por hemorragia ou para tratar a deficiência de um ou mais tipos celulares sanguíneos resultante de produção inadequada ou destruição excessiva.

Translocação cromossômica Anormalidade cromossômica na qual um segmento de um cromossomo é transferido para outro. Muitas doenças malignas de linfócitos estão associadas a translocações cromossômicas envolvendo um *locus* de Ig ou de TCR e um segmento cromossômico contendo um oncogene celular.

Transplante Processo de transferência de células, tecidos ou órgãos (i.e., enxertos) de um indivíduo para outro ou de um local para outro no mesmo indivíduo. O transplante é utilizado para o tratamento de uma variedade de doenças nas quais existe um distúrbio funcional de um tecido ou órgão. A principal barreira para o sucesso no transplante entre indivíduos é a reação imunológica (rejeição) ao enxerto transplantado.

Transplante de células-tronco hematopoiéticas Transplante de células-tronco hematopoiéticas coletadas do sangue ou da medula óssea; é clinicamente realizado para tratar distúrbios

hematopoiéticos ou linfopoiéticos e doenças malignas e também é utilizado em vários experimentos imunológicos em animais.

Transplante de medula óssea Ver **transplante de células-tronco hematopoiéticas**.

Transportador associado ao processamento antigênico (TAP, do inglês, *transporter associated with antigen processing*) Transportador peptídico ATP-dependente que medeia o transporte ativo de peptídeos do citosol para o local de montagem das moléculas do MHC de classe I dentro do retículo endoplasmático. O TAP é uma molécula heterodimérica composta dos polipeptídeos TAP-1 e TAP-2, ambos codificados por genes no MHC. Como os peptídeos são necessários para a montagem estável das moléculas do MHC de classe I, os animais deficientes em TAP expressam poucas moléculas do MHC de classe I na superfície celular, o que resulta em desenvolvimento e ativação de células T $CD8^+$ reduzidos.

Troca de isotipo (classe) de cadeia pesada Processo pelo qual um linfócito B altera o isotipo, ou classe, de anticorpo que ele produz, de IgM para IgG, IgE ou IgA, sem mudar a especificidade antigênica do anticorpo. A troca de classe de cadeia pesada é estimulada por citocinas e ligante de CD40 expressos pelas células T auxiliares e envolve a recombinação de segmentos VDJ das células B com segmentos gênicos de cadeia pesada *downstream*.

Ubiquitinação Ligação covalente de uma ou várias cópias de um pequeno polipeptídeo denominado ubiquitina a uma proteína. A ubiquitinação frequentemente serve para marcar proteínas para a degradação proteolítica pelos lisossomos ou proteassomos, sendo este último um passo crucial na via de processamento e apresentação de antígeno pelo MHC de classe I.

Uracil N-glicosilase (UNG) Enzima que remove resíduos uracil do DNA, criando um sítio não básico. A UNG é um participante-chave da troca de isotipo e mutações da UNG em homozigose resultam em uma síndroma de hiper-IgM.

Urticária Inchaço e vermelhidão transientes e localizados da pele causados pelo extravasamento de fluido e proteínas plasmáticas de pequenos vasos para a derme durante uma reação de hipersensibilidade imediata.

Vacina Preparação de antígeno microbiano, frequentemente combinada a adjuvantes, a qual é administrada aos indivíduos para induzir imunidade protetora contra infecções microbianas. O antígeno pode estar na forma de microrganismos vivos mas avirulentos, de microrganismos mortos, de componentes macromoleculares purificados de um microrganismo ou de um plasmídeo que contenha um DNA complementar que codifica um antígeno microbiano.

Vacina de antígeno purificado (subunidade) Vacina composta de antígenos purificados ou subunidades de microrganismos. Exemplos desse tipo de vacina incluem os toxoides diftérico e tetânico, vacinas de polissacarídeos de pneumococos e de *Haemophilus influenzae* e vacinas de polipeptídeos purificados contra os vírus da hepatite B e da influenza. Vacinas de antígenos purificados podem estimular respostas de anticorpos e de células T auxiliares, mas tipicamente não geram respostas de CTL.

Vacina de DNA Vacina composta de um plasmídeo bacteriano contendo um DNA complementar codificando um antígeno proteico. As vacinas de DNA presumivelmente funcionam porque as APCs profissionais são transfectadas *in vivo* pelo plasmídeo e expressam peptídeos imunogênicos que elicitam respostas específicas. Além disso, o DNA plasmidial contém nucleotídeos CpG que atuam como potentes adjuvantes.

Vacina de vírus vivo Vacina composta de uma forma de um vírus vivo, mas não patogênico (atenuado). Os vírus atenuados carregam mutações que interferem no ciclo de vida viral ou em sua patogênese. Como as vacinas de vírus vivos na verdade infectam as células receptoras, elas podem estimular efetivamente as respostas imunes que são ótimas para proteção contra infecção

viral selvagem. Uma vacina de vírus vivo comumente utilizada é a vacina oral de poliovírus Sabin.

Vacina sintética Vacinas compostas de antígenos derivados de DNA recombinante. As vacinas sintéticas para vírus da hepatite B e para vírus herpes simples estão atualmente em uso.

Variação antigênica Processo pelo qual antígenos expressos pelos microrganismos podem se alterar por meio de diversos mecanismos genéticos e, dessa maneira, permitir que os microrganismos escapem das respostas imunes. Um exemplo de variação antigênica é a mudança nas proteínas de superfície do vírus da influenza, hemaglutinina e neuraminidase, as quais requerem o uso de novas vacinas a cada ano.

Varíola Doença causada pelo vírus da varíola. A varíola foi a primeira doença infecciosa demonstrada com sendo prevenível pela vacinação e a primeira doença a ser completamente erradicada por um programa mundial de vacinação.

Vênulas de endotélio alto (HEVs, do inglês, *high endothelial venules*) Vênulas especializadas que são os locais da migração de linfócitos do sangue para o estroma de tecidos linfoides secundários. As HEVs são recobertas por células endoteliais arredondadas que emitem protrusões para dentro da luz do vaso e expressam moléculas de adesão únicas envolvidas na ligação de células B e T *naive* e de memória central.

Via alternativa de ativação do complemento Via de ativação do sistema complemento independente de anticorpo que ocorre quando o fragmento C3b da proteína C3 se liga às superfícies celulares microbianas. A via alternativa é um componente do sistema imune inato e medeia as respostas inflamatórias à infecção, bem como a lise direta de microrganismos.

Via clássica de ativação do complemento Via do complemento que é um braço efetor da imunidade humoral, gerando mediadores inflamatórios, opsoninas para fagocitose de antígenos e complexos líticos que destroem as células. A via clássica é iniciada pela ligação de complexos antígeno-anticorpo à molécula

C1, levando a clivagem proteolítica das proteínas C4 e C2 para gerar a C3 convertase da via clássica. A via clássica, assim como as vias alternativa e das lectinas, culminam na formação do complexo de ataque à membrana.

Via da lectina de ativação do complemento Via de ativação do complemento desencadeada pela ligação de polissacarídeos microbianos às lectinas circulantes, tais como MBL. A MBL é estruturalmente similar ao C1q e ativa o complexo enzimático C1r-C1s (como o C1q) ou ativa outra serina-esterase, denominada serina-esterase associada à proteína de ligação à manose. Os passos restantes da via da lectina, iniciando-se com a clivagem de C4, são os mesmos da via clássica.

Via de sinalização JAK-STAT Via de sinalização iniciada pela ligação de citocinas aos receptores de citocinas do tipo I e do tipo II. Essa via envolve sequencialmente a ativação de tirosina quinases Janus quinase (JAK) associada ao receptor, fosforilação da tirosina mediada por JAK das caudas citoplasmáticas dos receptores de citocina, acoplamento de transdutores de sinal e ativadores de transcrição (STATs) às cadeias fosforiladas do receptor, fosforilação da tirosina mediada por JAK das STATs associadas, dimerização e translocação nuclear das STATs e ligação da STAT às regiões reguladoras de genes-alvo, causando ativação transcricional daqueles genes.

Vigilância imunológica Conceito de que uma função fisiológica do sistema imune é reconhecer e destruir clones de células transformadas antes que elas se desenvolvam em tumores e matar tumores após eles se formarem. O termo *vigilância imunológica* é algumas vezes utilizado de modo genérico para descrever a função de linfócitos T em detectar e destruir qualquer célula, não necessariamente uma célula tumoral, que está expressando antígenos estranhos (p. ex.: microbianos).

Vírus Organismo primitivo, parasita intracelular obrigatório, ou partícula infecciosa que consiste em um genoma de ácido nucleico simples empacotado em um capsídeo proteico, algumas vezes circundado por um envelope de membrana. Muitos vírus

patogênicos de animais causam uma grande variedade de doenças. As respostas imunes humorais aos vírus podem ser efetivas no bloqueio da infecção das células e as células NK e CTLs são necessárias para matar as células já infectadas.

Vírus da imunodeficiência humana (HIV, do inglês, *human immunodeficiency virus*) Agente etiológico da AIDS. O HIV é um retrovírus que infecta uma variedade de tipos celulares, incluindo células T auxiliares expressando CD4, macrófagos e células dendríticas, e causa destruição crônica e progressiva do sistema imune.

Vírus Epstein-Barr (EBV, do inglês, *Epstein-Barr virus*) Vírus de DNA dupla fita da família do herpesvírus que é o agente etiológico da mononucleose infecciosa e está associado a alguns tumores malignos de célula B e ao carcinoma nasofaríngeo. O EBV infecta linfócitos B e algumas células epiteliais por ligação específica ao CR2 (CD21).

Western blot Técnica imunológica para determinar a presença de uma proteína em uma amostra biológica. O método envolve a separação de proteínas na amostra por eletroforese, transferência da matriz proteica do gel de eletroforese para uma membrana de suporte por meio de ação capilar (*blotting*) e, finalmente, a detecção da proteína pela ligação de um anticorpo específico para aquela proteína marcado enzimaticamente ou radioativamente.

XBP-1 Fator de transcrição que é necessário para a resposta de proteína desdobrada e para o desenvolvimento de plasmócitos.

Xenoantígeno Antígeno em um enxerto de outra espécie.

Xenoenxerto (enxerto xenogênico) Enxerto de órgão ou tecido derivado de uma espécie diferente da do receptor. O transplante de enxertos xenogênicos (p. ex.: de um porco) para humanos não é ainda prática devido a problemas especiais relacionados com a rejeição imunológica.

Xenorreativo Descrição de uma célula T ou anticorpo que reconhece e responde a um antígeno em um enxerto de outra espécie (um

xenoantígeno). A célula T pode reconhecer uma molécula de MHC xenogênica intacta ou um peptídeo derivado de uma proteína xenogênica ligada à molécula de MHC própria.

Zona marginal Região periférica dos folículos linfoides esplênicos contendo macrófagos que são particularmente eficientes na contenção de antígenos polissacarídicos. Tais antígenos podem persistir por prolongados períodos nas superfícies dos macrófagos da zona marginal, onde eles são reconhecidos pelas células B específicas, ou podem ser transportados para dentro dos folículos.

β2-microglobulina Cadeia leve de uma molécula do MHC de classe I. A β2-microglobulina é uma proteína extracelular codificada por um gene não polimórfico externo ao MHC, é estruturalmente homóloga a um domínio de Ig e é invariante dentre todas as moléculas de classe I.

APÊNDICES

Apêndice I: Citocinas

Apêndice II: Principais Características de Moléculas CD Selecionadas

Apêndice III: Técnicas de Laboratório Comumente Usadas em Imunologia

APÊNDICE I

Citocinas

Citocina e Subunidades	Principal Fonte Celular	Receptor de Citocina e Subunidades*	Principais Alvos Celulares e Efeitos Biológicos
Membros da Família de Citocinas Tipo II			
Interleucina-2 (IL-2)	Células T	CD25 (IL-2Rα) CD122 (IL-2Rβ) CD132(γc)	Células T: proliferação e diferenciação em células efetoras e de memória; promove desenvolvimento, sobrevivência e função da célula T regulatória Células NK: proliferação, ativação Células B: proliferação, síntese de anticorpo (*in vitro*)
Interleucina-3 (IL-3)	Células T	CD123 (IL-3Rα) CD131 (βc)	Progenitores hematopoiéticos imaturos: maturação induzida de todas as linhagens hematopoiéticas
Interleucina-4 (IL-4)	Células T $CD4^+$ (Th2, Thf), mastócitos	CD124 (IL-4Rα) CD132(γc)	Células B: troca de isotipo para IgE Células T: diferenciação Th2, proliferação Macrófagos: ativação alternativa e inibição de ativação clássica IFN-γ-mediada
Interleucina-5 (IL-5)	Células T $CD4^+$ (Th2), ILCs grupo 2	CD125 (IL-5Rα) CD131 (βc)	Eosinófilos: ativação, geração aumentada

Citocina e Subunidades	Principal Fonte Celular	Receptor de Citocina e Subunidades*	Principais Alvos Celulares e Efeitos Biológicos
Interleucina-6 (IL-6)	Macrófagos, células endoteliais, células T	CD126 (IL-6Rα) CD130 (gp130)	Fígado: síntese de proteína de fase aguda Células B: proliferação de células produtoras de anticorpo Células T: diferenciação Th17
Interleucina-7 (IL-7)	Fibroblastos, células estromais da medula óssea	CD127 (IL-7R) CD132(γc)	Progenitores linfoides imaturos: proliferação dos progenitores de células T e B iniciais Linfócitos T: sobrevivência de células *naive* e de memória
Interleucina-9 (IL-9)	Células T $CD4^+$	CD129 (IL-9R) CD132(γc)	Mastócitos, células B, células T e células teciduais: sobrevivência e ativação
Interleucina-11 (IL-11)	Células estromais da medula óssea	IL-11Rα CD130 (gp130)	Produção de plaquetas
Interleucina-12 (IL-12): IL-12A (p35) IL-12B (p40)	Macrófagos, células dendríticas	CD212 (IL-12Rβ1) IL-12Rβ2	Células T: diferenciação Th1 Células NK e células T: síntese de IFN-γ, atividade citotóxica aumentada
Interleucina-13 (IL-13)	Células T $CD4^+$ (Th2), células NKT, ILCs grupo 2, mastócitos	CD213a1 (IL-13Rα1) CD213a2 (IL-13Rα2) CD132 (γc)	Células B: troca de isotipo para IgE Células epiteliais: produção aumentada de muco Macrófagos: ativação alternativa

Citocina e Subunidades	Principal Fonte Celular	Receptor de Citocina e Subunidades*	Principais Alvos Celulares e Efeitos Biológicos
Interleucina-15 (IL-15)	Macrófagos, outros tipos celulares	IL-15R α CD122 (IL-2Rβ) CD132(γc)	Células NK: proliferação Células T: sobrevivência e proliferação de células $CD8^+$
Interleucina-17A (IL-17A) Interleucina-17F (IL-17F)	Células T $CD4^+$ (Th17), ILCs grupo 3	CD217 (IL-17RA) IL-17RC	Células epiteliais, macrófagos e outros tipos celulares: produção aumentada de quimiocina e citocina; produção de GM-CSF e G-CSF
Interleucina-21 (IL-21)	Células Th2, células Th17, células Thf	CD360 (IL-21R) CD132(γc)	Células B: ativação, proliferação, diferenciação Células Thf: desenvolvimento de células Th17: geração aumentada
Interleucina-23 (IL-23): IL-23A (p19) IL-12B (p40)	Macrófagos, células dendríticas	IL-23R CD212 (IL-12Rβ1)	Células T: diferenciação e expansão de células Th17
Interleucina-25 (IL-25; IL-17E)	Células T, mastócitos, eosinófilos, macrófagos, células epiteliais de mucosa	IL-17RB	Células T e vários outros tipos celulares: expressão de IL-4, IL-5, IL-13
Interleucina-27 (IL-27): IL-27 (p28) EBI3 (IL-27B)	Macrófagos, células dendríticas	IL-27Rα CD130 (gp130)	Células T: intensificação da diferenciação Th1; inibição da diferenciação Th17 Células NK: síntese de IFN-γ?

Citocina e Subunidades	Principal Fonte Celular	Receptor de Citocina e Subunidades*	Principais Alvos Celulares e Efeitos Biológicos
Fator da célula-tronco (ligante de c-Kit)	Células estromais da medula óssea	CD117 (KIT)	Células-tronco hematopoiéticas pluripotentes: maturação induzida de todas as linhagens hematopoiéticas
Granulócito-monócito CSF (GM-CSF)	Células T, macrófagos, células endoteliais, fibroblastos	CD116 (GM-CSFRα) CD131 (βc)	Progenitores imaturos e comprometidos, macrófagos maduros: maturação induzida de granulócitos e monócitos, ativação de macrófago
Monócito CSF (M-CSF, CSF1)	Macrófagos, células endoteliais, células da medula óssea, fibroblastos	CD115 (CSF1R)	Progenitores hematopoiéticos comprometidos: maturação induzida de monócitos
Granulócito CSF (G-CSF, CSF3)	Macrófagos, fibroblastos, células endoteliais	CD114 (CSF3R)	Progenitores hematopoiéticos comprometidos: maturação induzida de granulócitos
Linfopoietina estromal tímica (TSLP)	Queratinócitos, células epiteliais brônquicas, fibroblastos, células musculares lisas, células endoteliais, mastócitos, macrófagos, granulócitos e células dendríticas	Receptor de TSLP CD127 (IL-7R)	Células dendríticas: ativação Eosinófilos: ativação Mastócitos: produção de citocina Células T: diferenciação Th2
Membros da Família de Citocinas Tipo II			
IFN-α (múltiplas proteínas)	Células dendríticas plasmocitoides, macrófagos	IFNAR1 CD118 (IFNAR2)	Todas as células: estado antiviral, expressão aumentada de MHC classe I Células NK: ativação

Citocina e Subunidades	Principal Fonte Celular	Receptor de Citocina e Subunidades*	Principais Alvos Celulares e Efeitos Biológicos
IFN-β	Fibroblastos, células dendríticas plasmocitoides	IFNAR1 CD118 (IFNAR2)	Todas as células: estado antiviral, expressão aumentada de MHC classe I Células NK: ativação
Interferon-γ (IFN-γ)	Células T (Th1, células T $CD8^+$), células NK	CD119 (IFNGR1) IFNGR2	Macrófagos: ativação clássica (funções microbicidas aumentadas) Células B: troca de isotipo para subclasses de IgG opsonizadoras e fixadoras de complemento (estabelecido em camundongos) Células T: diferenciação Th1 Várias células: expressão aumentada de moléculas de MHC classes I e II, aumento do processamento e apresentação antigênica para células T
Interleucina-10 (IL-10)	Macrófagos, células T (principalmente células T regulatórias)	CD210 (IL-10Rα) IL-10Rβ	Macrófagos, células dendríticas: inibição da expressão de IL-12, coestimuladores e MHC classe II
Interleucina-22 (IL-22)	Células Th17	IL-22Rα1 *ou* IL-22Rα2 IL-10Rβ2	Células epiteliais: produção de defensinas, função de barreira aumentada Hepatócitos: sobrevivência
Interleucina-26 (IL-26)	Células T, monócitos	IL-20R17L-10R2	Não estabelecido

Citocina e Subunidades	Principal Fonte Celular	Receptor de Citocina e Subunidades*	Principais Alvos Celulares e Efeitos Biológicos
Interferons-λ (interferons tipo III)	Células dendríticas	IFNLR1 (IL-28Rα) CD210B (IL-10Rβ2)	Células epiteliais: estado antiviral
Fator inibidor da leucemia (LIF)	Trofoectoderme embrionária, células estromais da medula óssea	CD118 (LIFR) CD130 (gp130)	Células-tronco: bloqueio na diferenciação
Oncostatina M	Células estromais da medula óssea	OSMR CD130 (gp130)	Células endoteliais: regulação da produção de citocina hematopoiética Células cancerosas: inibição de proliferação
Citocinas da Superfamília do TNF†			
Fator de necrose tumoral (TNF, TNFSF1)	Macrófagos, células NK, células T	CD120a (TNFRSF1) *ou* CD120b (TNFRSF2)	Células endoteliais: ativação (inflamação, coagulação) Neutrófilos: ativação Hipotálamo: febre Músculo, gordura: catabolismo (caquexia)
Linfotoxina-α (LTα, TNFSF1)	Células T, células B	CD120a (TNFRSF1) *ou* CD120b (TNFRSF2)	Idem ao TNF
Linfotoxina-αβ (LTαβ)	Células T, células NK, células B foliculares, células indutoras linfoides	LTβR	Células estromais do tecido linfoide e células dendríticas foliculares: expressão de quimiocina e organogênese linfoide

Citocina e Subunidades	Principal Fonte Celular	Receptor de Citocina e Subunidades*	Principais Alvos Celulares e Efeitos Biológicos
BAFF (CD257, TNFSF13B)	Células dendríticas, monócitos, células dendríticas foliculares, células B	BAFF-R (TNFRSF13C) *ou* TACI (TNFRSF13B) *ou* BCMA (TNFRSF17)	Células B: sobrevivência, proliferação
APRIL (CD256, TNFSF13)	Células T, células dendríticas, monócitos, células dendríticas foliculares	TACI (TNFRSF13B) *ou* BCMA (TNFRSF17)	Células B: sobrevivência, proliferação
Osteoprotegerina (OPG, TNFRSF11B)	Osteoblastos	RANKL	Células precursoras de osteoclasto: inibe a diferenciação do osteoclasto
Citocinas da Família da IL-1			
Interleucina-1α (IL-1α)	Macrófagos, células dendríticas, fibroblastos, células endoteliais, queratinócitos, hepatócitos	CD121a (IL-1R1) IL-1RAP *ou* CD121b (IL-1R2)	Células endoteliais: ativação (inflamação, coagulação) Hipotálamo: febre
Interleucina-1β (IL-1β)	Macrófagos, células dendríticas, fibroblastos, células endoteliais, queratinócito	CD121a (IL-1R1) IL-1RAP *ou* CD121b (IL-1R2)	Células endoteliais: ativação (inflamação, coagulação) Hipotálamo: febre Fígado: síntese de proteínas de fase aguda Células T: diferenciação Th17
Antagonista de receptor de interleucina-1 (IL-1RA)	Macrófagos	CD121a (IL-1R1) IL-1RAP	Várias células: antagonista competitivo de IL-1

Citocina e Subunidades	Principal Fonte Celular	Receptor de Citocina e Subunidades*	Principais Alvos Celulares e Efeitos Biológicos
Interleucina-18 (IL-18)	Monócitos, macrófagos, células dendríticas, células de Kupffer, queratinócitos, condrócitos, fibroblastos sinoviais, osteoblastos	CD218a (IL-18Rα) CD218b (IL-18Rβ)	Células NK e células T: síntese de IFN-γ Monócitos: expressão de GM-CSF, TNF, IL-1β Neutrófilos: ativação, liberação de citocina
Interleucina-33 (IL-33)	Células endoteliais, células musculares lisas, queratinócitos, fibroblastos	ST2 (IL1RL1) Receptor de IL-1 Proteína acessória (IL1RAP)	Células T: desenvolvimento de Th2 ILCs: ativação de ILCs grupo 2
Outras Citocinas			
Fator transformador do crescimento-β (TGF-β)	Células T (principalmente Tregs), macrófagos, outros tipos celulares	TGF-β R1 TGF-β R2 TGF-β R3	Células T: inibição de proliferação e de funções efetoras; diferenciação Th17 e Treg Células B: inibição de proliferação; produção de IgA Macrófagos: inibição de ativação; estimulação de fatores angiogênicos Fibroblastos: síntese aumentada de colágeno

APRIL, A proliferation-inducing ligand; BAFF, B cell-activating factor belonging to the TNF family; BCMA, B cell maturation protein; CSF, colony-stimulating factor; IFN, interferon; IgE, imunoglobulina E; ILCs, innate lymphoid cells; MHC, complexo principal de histocompatibilidade; célula NK, célula natural killer; OSMR, oncostatin M receptor; RANK, receptor activator for nuclear factor κB ligand; RANKL, ligante de RANK; TACI, transmembrane activator and calcium modulator and cyclophilin ligand interactor; TNF, tumor necrosis factor; TNFSF, superfamília do TNF; TNFRSF, superfamília do receptor do TNF.

* A maioria dos receptores de citocinas são dímeros *ou* trímeros compostos por diferentes cadeias de polipeptídeos, algumas das quais são compartilhadas entre receptores para diferentes citocinas. O conjunto de polipeptídeos que compõe um receptor funcional

(ligação da citocina somada à sinalização) para cada citocina é listado. As funções de cada subunidade polipeptídica não foram listadas.

† Todos os membros da superfamília do TNF (TNFSF) são expressos como proteínas transmembrana de superfície, mas apenas as subpopulações predominantemente ativas como citocinas solúveis proteoliticamente liberadas são listadas na tabela. Não estão listados na tabela outros membros da TNFSF que atuam predominantemente na forma ligada à membrana e não são (no sentido estrito) citocinas. Essas proteínas ligadas à membrana e os receptores da TNFRSF aos quais se ligam incluem OX40L (CD252, TNFSF4):OX40 (CD134, TNFRSF4); CD40L (CD154, TNFSF5):CD40 (TNFRSF5); FasL (CD178, TNFSF6):Fas (CD95, TNFRSF6); CD70 (TNFSF7):CD27 (TNFRSF27); CD153 (TNFSF8):CD30 (TNFRSF8); TRAIL (CD253, TNFSF10):TRAIL-R (TNFRSF10A-D); RANKL (TNFSF11):RANK (TNFRSF11); TWEAK (CD257, TNFSF12):TWEAKR (CD266, TNFRSF12); LIGHT (CD258, TNFSF14):HVEM (TNFRSF14); GITRL (TNFSF18):GITR (CD357 TNFRSF18); 4-IBBL:4-IBB (CD137).

APÊNDICE II

Principais Características de Moléculas CD Selecionadas

A seguinte lista inclui moléculas CD (do inglês, *cluster of differentiation*) que são referidas no texto. Muitas citocinas e receptores de citocinas foram designados por números de CD, mas nos referimos a estes pela designação mais descritiva de citocinas, listadas no Apêndice I. Uma listagem completa e atualizada das moléculas CD pode ser encontrada na página da interned http://www.hcdm.org.

Número CD (Outros Nomes)	Estrutura Molecular, Família	Principal Expressão Celular	Função(ões) Conhecida(s) ou Proposta(s)
CD1a-d	49 kDa; superfamília de Ig MHC de classe I-símile; associada à β_2-microglobulina	Timócitos, células dendríticas (incluindo células de Langerhans)	Apresentação de antígenos não peptídicos (lipídeos e glicoproteínas) à algumas células T
CD1e	28 kDa; MHC de classe I-símile; associada à β_2-microglobulina	Células dendríticas	A mesma de CD1a
CD2 (LFA-2)	50 kDa; superfamília de Ig	Células T, células NK	Molécula de adesão (liga-se a CD58); ativação de células T; lise mediada por CTL e células NK
CD3γγ	25-28 kDa; associada a CD3δ e CD3ε no complexo TCR; superfamília de Ig; ITAM na cauda citoplasmática	Células T	Expressão na superfície celular e transdução de sinal pelo receptor antigênico da célula T
CD3δ	20 kDa; associada a CD3γ e CD3ε no complexo TCR; superfamília de Ig; ITAM na cauda citoplasmática	Células T	Expressão na superfície celular e transdução de sinal pelo receptor antigênico da célula T
CD3ε	20 kDa; associada a CD3δ e CD3γ no complexo TCR; superfamília de Ig; ITAM na cauda citoplasmática	Células T	Expressão na superfície celular e transdução de sinal pelo receptor antigênico da célula T

Número CD (Outros Nomes)	Estrutura Molecular, Família	Principal Expressão Celular	Função(ões) Conhecida(s) ou Proposta(s)
CD4	55 kDa; superfamília de Ig	Células T restritas ao MHC de classe II; alguns macrófagos	Correceptor na ativação antígeno-induzida de células T restritas ao MHC de classe II (liga-se a moléculas do MHC classe II); desenvolvimento de timócitos; receptor para o HIV
CD5	67 kDa; família de receptores *scavenger*	Células T; subpopulação B1 de células B	Molécula de sinalização; liga-se a CD72
CD8α	34 kDa; expresso como um homodímero ou heterodímero com CD8β	Células T restritas ao MHC de classe I; subpopulação de células dendríticas	Correceptor na ativação antígeno-induzida de células T restritas ao MHC de classe I (liga-se a moléculas do MHC classe I); desenvolvimento de timócitos
CD8β	34 kDa; expresso como um heterodímero com CD8α; superfamília de Ig	Células T restritas ao MHC de classe I	A mesma de CD8α
CD10	100 kDa; proteína de membrana do tipo II	Células B imaturas e algumas maduras; progenitores linfoides, granulócitos	Metaloproteinase; função desconhecida no sistema imune
CD11a (cadeia α de LFA-1)	180 kDa; ligado não covalentemente ao CD18 para formar a integrina LFA-1	Leucócitos	Adesão célula-célula; liga-se a ICAM-1 (CD54), ICAM-2 (CD102), e ICAM-3 (CD50)

Número CD (Outros Nomes)	Estrutura Molecular, Família	Principal Expressão Celular	Função(ões) Conhecida(s) ou Proposta(s)
CD11b (Mac-1; CR3)	165 kDa; ligado não covalentemente ao CD18 para formar a integrina Mac-1	Granulócitos, monócitos, macrófagos, células dendríticas, células NK	Fagocitose de partículas recobertas com iC3b; adesão de neutrófilos e monócitos ao endotélio (liga-se a CD54) e a proteínas da matriz extracelular
CD11c (p 150,95; cadeia CR4α)	145 kDa; ligado não covalentemente ao CD18 para formar a integrina p150,95	Monócitos, macrófagos, granulócitos, células NK	Funções similares às de CD11b
CD14	53 kDa; ligado a GPI	Células dendríticas, monócitos, macrófagos, granulócitos	Liga-se ao complexo LPS e proteína ligante de LPS e apresenta o LPS ao TLR4; necessário para a ativação de macrófagos induzida por LPS
CD16a (FcγRIIIA)	50-70 kDa; proteína transmembrana; superfamília de Ig	Células NK, macrófagos	Liga-se à região Fc da IgG; fagocitose e citotoxicidade celular dependente de anticorpo
CD16b (FcγRIIIB)	50-70 kDa; ligado a GPI; superfamília de Ig	Neutrófilos	Liga-se à região Fc da IgG; sinergismo com FcγRII na ativação de neutrófilos mediada por imunocomplexos

Número CD (Outros Nomes)	Estrutura Molecular, Família	Principal Expressão Celular	Função(ões) Conhecida(s) ou Proposta(s)
CD18	95 kDa; ligado não covalentemente ao CD11a, CD11b ou CD11c para formar as β_2-integrinas	Leucócitos	Ver CD11a, CD11b, CD11c
CD19	95 kDa; superfamília de Ig	Maioria das células B	Ativação da célula B; forma um complexo correceptor com CD21 e CD81 que dispara sinais que sinergizam com os sinais do complexo receptor antigênico da célula B
CD20	35-37 kDa; família tetraspan (TM4SF)	Células B	Possível papel na ativação ou regulação de células B; canal iônico de cálcio
CD21 (CR2; receptor de C3d)	145 kDa; reguladores da ativação do complemento	Células B maduras, células dendríticas foliculares	Receptor para o fragmento C3d do complemento; forma um complexo correceptor com CD19 e CD81 que dispara sinais ativadores em células B; receptor para o vírus Epstein-Barr
CD22	130-140 kDa; superfamília de Ig; família das sialoadesinas; ITIM na cauda citoplasmática	Células B	Regulação da ativação de células B; molécula de adesão

Número CD (Outros Nomes)	Estrutura Molecular, Família	Principal Expressão Celular	Função(ões) Conhecida(s) ou Proposta(s)
CD23 (FcεRIIB)	45 kDa; lectina tipo C	Células B ativadas, monócitos, macrófagos	Receptor Fcε de baixa afinidade, induzido por IL-4; função não está clara
CD25 (cadeia α do receptor de IL-2)	55 kDa; associado não covalentemente com as cadeias IL-2Rβ (CD122) e IL-2Rγ (CD132) para formar o receptor de alta afinidade da IL-2	Células T e B ativadas, células T reguladoras (Treg)	Liga-se a IL-2 e promove respostas a baixas concentrações de IL-2
CD28	Homodímero de cadeias de 44 kDa; superfamília de Ig	Células T (todas as $CD4^+$ e >50% das células $CD8^+$ em humanos; todas as células T maduras em camundongos)	Receptor de células T para as moléculas coestimuladoras CD80 (B7-1) e CD86 (B7-2)
CD29	130 kDa; ligado não covalentemente às cadeias CD49a-d para formar as integrinas VLA (β_1)	Células T, células B, monócitos, granulócitos	Adesão de leucócitos a proteínas da matriz extracelular e endotélio (ver CD49)
CD30 (TNFRSF8)	120 kDa; superfamília do TNFR	Células T e B ativadas; células NK, monócitos, células Reed-Sternberg na doença de Hodgkin	Não estabelecida
CD31 (molécula de adesão plaqueta/célula endotelial 1 [PECAM-1])	130-140 kDa; superfamília de Ig	Plaquetas, monócitos, granulócitos, células B, células endoteliais	Molécula de adesão envolvida na transmigração de leucócito através do endotélio

Número CD (Outros Nomes)	Estrutura Molecular, Família	Principal Expressão Celular	Função(ões) Conhecida(s) ou Proposta(s)
CD32 (FcγRII)	40 kDa; superfamília de Ig; ITIM na cauda citoplasmática; formas A, B e C são produtos de genes diferentes mas homólogos	Células B, macrófagos, células dendríticas, granulócitos	Receptor Fc para IgG agregada; atua como receptor de inibição que bloqueia sinais de ativação em células B e outras células
CD34	105-120 kDa; sialomucina	Precursores de células hematopoiéticas; células endoteliais nas vênulas de endotélio alto	? Papel na adesão célula-célula
CD35 (receptor de complemento tipo 1, CR1)	190-285 kDa (quatro produtos de alelos polimórficos); família de reguladores da ativação do complemento	Granulócitos, monócitos, eritrócitos, células B, células dendríticas foliculares, algumas células T	Liga-se a C3b e C4b; promove fagocitose de partículas recobertas com C3b ou C4b e imunocomplexos; regula a ativação do complemento
CD36	85-90 kDa	Plaquetas, monócitos, macrófagos, células endoteliais	Receptor *scavenger* para lipoproteínas oxidadas de baixa densidade; adesão de plaquetas; fagocitose de células apoptóticas
CD40	Homodímero de cadeias de 44 a 48 kDa; superfamília do TNFR	Células B, macrófagos, células dendríticas, células endoteliais	Liga-se a CD154 (CD40L); papel na ativação de células B mediada por células T, macrófagos e células dendríticas
CD43	95-135 kDa; sialomucina	Leucócitos (exceto células B circulantes)	? Papel na adesão célula-célula

Número CD (Outros Nomes)	Estrutura Molecular, Família	Principal Expressão Celular	Função(ões) Conhecida(s) ou Proposta(s)
CD44	80->100 kDa, altamente glicosilada	Leucócitos, eritrócitos	Liga-se ao ácido hialurônico; envolvido na adesão de leucócitos a células endoteliais e matriz extracelular
CD45 (antígeno leucocitário comum [LCA, do inglês, *leukocyte common antigen*])	Múltiplas isoformas, 180-220 kDa (ver CD45R); família dos receptores de tirosina fosfatases proteicas; família da fibronectina tipo III	Células hematopoiéticas	Tirosina fosfatase que regula a ativação de células T e B
CD45R	CD45RO:180 kDa; CD45RA: 220 kDa; CD45RB: isoformas de 190, 205, e 220 kDa	CD45RO: células T de memória; subpopulações de células B; monócitos, macrófagos CD45RA: células T *naive*, células B, monócitos CD45RB: células B, subpopulações de células B	Ver CD45
CD46 (proteína cofator de membrana [MCP, do inglês, *membrana cofactor protein*])	52-58 kDa; família de reguladores da ativação do complemento	Leucócitos, células epiteliais, fibroblastos	Regulação da ativação do complemento
CD47	47-52 kDa; superfamília de Ig	Todas as células hematopoiéticas, células epiteliais, células endoteliais, fibroblastos	Adesão, migração e ativação leucocitária; sinal "não me coma" para fagócitos

Número CD (Outros Nomes)	Estrutura Molecular, Família	Principal Expressão Celular	Função(ões) Conhecida(s) ou Proposta(s)
CD49d	150 kDa; ligado não covalentemente ao CD29 para formar VLA-4 (integrina $\alpha_4\beta_1$)	Células T, monócitos, células B, células NK, eosinófilos, células dendríticas, timócitos	Adesão de leucócitos ao endotélio e matriz extracelular; liga-se a VCAM-1 e MadCAM-1; liga-se a fibronectina e colágenos
CD54 (ICAM-1)	75-114 kDa; superfamília de Ig	Células T, células B, monócitos, células endoteliais (induzível por citocina)	Adesão célula-célula; ligante para CD11aCD18 (LFA-1) e CD11bCD18 (Mac-1); receptor para rinovírus
CD55 (fator de aceleração de decaimento [DAF, do inglês, *decay-accelerating factor*])	55-70 kDa; ligado a GPI; família de reguladores da ativação do complemento	Ampla	Regulação da ativação do complemento
CD58 (Antígeno 3 associado a função leucocitária [LFA-3, do inglês, *leukocyte function-associated antigen 3*])	55-70 kDa; ligado a GPI ou proteína integral de membrana	Ampla	Adesão leucocitária; liga-se a CD2
CD59	18-20 kDa; ligado a GPI	Ampla	Liga-se a C9; inibe a formação do complexo de ataque a membrana do complemento
CD62E (E-selectina)	115 kDa; família de selectinas	Células endoteliais	Adesão leucócito-endotélio
CD62L (L-selectina)	74-95 kDa; família de selectinas	Células B, células T, monócitos, granulócitos, algumas células NK	Adesão leucócito-endotélio; *homing* de células T *naive* para linfonodos periféricos

Número CD (Outros Nomes)	**Estrutura Molecular, Família**	**Principal Expressão Celular**	**Função(ões) Conhecida(s) ou Proposta(s)**
CD62P (P-selectina)	140 kDa; família de selectinas	Plaquetas, células endoteliais (presente em grânulos, translocados para superfície da célula na ativação)	Adesão de leucócitos ao endotélio, plaquetas; liga-se a CD162 (PSGL-1)
CD64 (FcγRI)	72 kDa; superfamília de Ig; associado não covalentemente à cadeia γ comum do FcR	Monócitos, macrófagos, neutrófilos ativados	Receptor Fcγ de alta afinidade; papel na fagocitose, CCDA, ativação de macrófagos
CD66e (antígeno carcinoembriônico [CEA, do inglês, *carcinoembryonic antigen*])	180-220 kDa; superfamília de Ig; família CEA	Células epiteliais colônicas e outras	? Adesão, marcador clínico da carga do carcinoma
CD69	23 kDa; lectina tipo C	Células B ativadas, células T, células NK, neutrófilos	Liga e prejudica a expressão de S1PR1 de superfície, promovendo, assim, a retenção de linfócitos recentemente ativados nos tecidos linfoides
CD74 (cadeia invariante do MHC de classe II [I_i])	Isoformas de 33, 35 e 41 kDa	Células B, células dendríticas, monócitos, macrófagos; outras células expressando MHC de classe II	Liga-se a moléculas do MHC de classe II recentemente sintetizadas e direciona sua segregação intracelular

Número CD (Outros Nomes)	Estrutura Molecular, Família	Principal Expressão Celular	Função(ões) Conhecida(s) ou Proposta(s)
CD79a (Igα)	33 e 45 kDa; forma dímeros com CD79b; superfamília de Ig; ITAM na cauda citoplasmática	Células B maduras	Necessário para a expressão na superfície celular e transdução de sinal pelo complexo receptor antigênico das células B
CD79b (Igβ)	37-39kDa; forma dímeros com CD79α; superfamília de Ig; ITAM na cauda citoplasmática	Células B maduras	Necessário para a expressão na superfície celular e transdução de sinal pelo complexo receptor antigênico das células B
CD80 (B7-1)	60 kDa; superfamília de Ig	Células dendríticas, células B ativadas e macrófagos	Coestimulador para ativação de linfócitos T; ligante para CD28 e CD152 (CTLA-4)
CD81 (alvo para antígeno 1 antiproliferativo [(TAPA 1, do inglês, *target for anti-proliferative antigen 1*])	26 kDa; tetraspan (TM4SF)	Células T, células B, células NK, células dendríticas, timócitos, células endoteliais	Ativação de células B; forma um complexo correceptor com CD19 e CD21 que dispara sinais que sinergizam com sinais do complexo receptor antigênico das células B
CD86 (B7-2)	80 kDa; superfamília de Ig	Células B, monócitos; células dendríticas; algumas células T	Coestimulador para ativação de linfócitos T; ligante para CD28 e CD152 (CTLA-4)

Número CD (Outros Nomes)	Estrutura Molecular, Família	Principal Expressão Celular	Função(ões) Conhecida(s) ou Proposta(s)
CD88 (receptor de C5a)	43 kDa; família de receptores de 7 domínios transmembranas, acoplados à proteína G	Granulócitos, monócitos, células dendríticas, mastócitos	Receptor para o fragmento C5a do complemento; papel na inflamação induzida pelo complemento
CD89 (receptor Facer Fcα [FcαR])	55-75 kDa; superfamília de Ig; associado não covalentemente à cadeia γ comum do FcR	Granulócitos, monócitos, macrófagos, subpopulações de células T, subpopulações de células B	Liga-se a IgA; medeia citoxicidade celular dependente de IgA
CD90 (Thy-1)	25-35 kDa; ligado a GPI; superfamília de Ig	Timócitos, células T periféricas (camundongos), células progenitoras hematopoiéticas $CD34^+$, neurônios	Marcadores para células T; função desconhecida
CD94	43 kDa; lectina tipo C; nas células NK, associa-se covalentemente a outras moléculas de lectina tipo C (NKG2)	Células NK, subpopulação de células T $CD8^+$	Complexo CD94/NKG2 atua como um receptor de inibição da célula NK; liga-se à molécula do MHC de classe I HLA-E
CD95 (Fas)	Homotrímero com cadeias de 45 kDa; superfamília do TNFR	Ampla	Liga-se ao Fas-ligante; dispara sinais que induzem morte por apoptose
CD102 (ICAM-2)	55-65 kDa; superfamília de Ig	Células endoteliais, linfócitos, monócitos, plaquetas	Ligante para CD11aCD18 (LFA-1); adesão célula-célula

Número CD (Outros Nomes)	Estrutura Molecular, Família	Principal Expressão Celular	Função(ões) Conhecida(s) ou Proposta(s)
CD103 (subunidade α_E da integrina)	Dímeros com subunidades de 150 e 25 kDa; ligado não covalentemente à subunidade β_7 da integrina para formar a integrina $\alpha_E\beta_7$	Linfócitos intraepiteliais, outros tipos celulares	Papel no *homing* de células T e retenção na mucosa; liga-se à E-caderina
CD106 (molécula 1 de adesão de células vasculares [VCAM-1, do inglês, *vascular cell adhesion molecule*])	100-110 kDa; superfamília de Ig	Células endoteliais, macrófagos, celulares dendríticas foliculares, células estromais da médula	Adesão das células ao endotélio; receptor para integrina CD49dCD29 (VLA-4); papel no tráfego de linfócitos, ativação
CD134 (OX40, TNFRSF4)	29 kDa; superfamília do TNFR	Células T ativadas	Receptor para CD252 de células T; coestimulação de células T
CD141 (BDCA-3, família 9A de domínios de lectina tipo C [CLEC9A], trombomodulina	60 kDa, domínios do tipo EGF	Apresentação cruzada por células dendríticas, monócitos, células endoteliais	Liga-se à trombina e previne coagulação sanguínea
CD150 (molécula sinalizadora de ativação do linfócito [SLAM, do inglês, *signaling lymphocyte activation molecule*])	37 kDa; superfamília de Ig	Timócitos, linfócitos ativados, células dendríticas, células endoteliais	Regulação das interações célula B-célula T e ativação de linfócitos

Número CD (Outros Nomes)	Estrutura Molecular, Família	Principal Expressão Celular	Função(ões) Conhecida(s) ou Proposta(s)
CD152 (proteína 4 associada ao linfócito T citotóxico [CTLA-4, do inglês, *cytotoxic T lymphocyte-associated protein 4*]	33, 50 kDa; superfamília de Ig	Linfócitos T ativados; células T reguladoras	Medeia a função supressora de células T reguladoras; inibe as respostas das células T; liga-se a CD80 e (B7-1) e CD86 (B7-2) nas células apresentadoras de antígenos
CD154 (CD40-ligante [CD40L])	Homotrímeros com cadeias de 32 a 39 kDa; superfamília do TNFR	Células T $CD4^+$ ativadas	Ativação de células B, macrófagos, e células endoteliais, ligante para CD40
CD158 (receptor de morte do tipo Ig [KIR, do inglês, *killer Ig-like receptor*])	50 e 58 kDa; superfamília de Ig; família KIR; ITIMs ou ITAMs na cauda citoplasmática	Células NK, subpopulações de células T	Inibição ou ativação de células NK durante interação com moléculas apropriadas de HLA de classe I
CD159a (NKG2A)	43 kDa; lectina tipo C; forma heterodímero com CD94	Células NK, subpopulações de células T	Inibição ou ativação de células NK durante interação com moléculas de HLA de classe I
CD159c (NKG2C)	40 kDa; lectina tipo C; forma heterodímero com CD94	Células NK	Ativação de células NK durante interação com moléculas apropriadas de HLA de classe I
CD162 (ligante glicoproteico 1 de P-selectina [PSGL, do inglês, *P-selectin glycoprotein ligand 1*])	Homodímero com cadeias de 120 kDa; sialomucina	Células T, monócitos, granulócitos, algumas células B	Ligante para selectinas (CD62P, CD62L); adesão de leucócitos ao endotélio

Número CD (Outros Nomes)	Estrutura Molecular, Família	Principal Expressão Celular	Função(ões) Conhecida(s) ou Proposta(s)
CD178 (Fas-ligante [FasL])	Homotrímero com subunidades de 31 kDa; superfamília do TNF	Células T ativadas	Ligante para CD95 (Fas); dispara morte apoptótica
CD206 (receptor de manose)	166 kDa; lectina tipo C	Macrófagos	Liga-se a glicoproteínas contendo altas quantidades de manose em patógenos; medeia endocitose de glicoproteínas pelos macrófagos e fagocitose de bactérias, fungos e outros patógenos
CD223 (gene 3 de ativação de linfócitos [LAG3, do inglês, *lymphocyte-activation gene 3*])	57,4 kDa; superfamília de Ig	Células T, células NK, células B, DCs plasmocitoides	Liga-se a MHC de classe II; regula negativamente a ativação de células T
CD244 (2B4)	41 kDa; superfamília de Ig; família CD2/CD48/CD58; família SLAM	Células NK. Células T CD8, células T γδ	Receptor para CD148; modula atividade citotóxica de células NK
CD247 (cadeia ζ do TCR	18 kDa; ITAMs na cauda citoplasma	Células T; células NK	Cadeia de sinalização do TCR e dos receptores de ativação de células NK
CD252 (OX40-ligante)	21 kDa; superfamília do TNF	Células dendríticas, macrófagos e células B	Ligante para CD134 (OX40, TNFRSF4); coestimula células T

Número CD (Outros Nomes)	**Estrutura Molecular, Família**	**Principal Expressão Celular**	**Função(ões) Conhecida(s) ou Proposta(s)**
CD267 (TACI)	31 kDa; superfamília do TNFR	Células B	Receptor das citocinas BAFF e APRIL; medeia a sobrevivência de células B
CD268 (receptor de BAFF)	19 kDa; superfamília do TNFR	Células B	Receptor de BAFF; medeia a sobrevivência de células B
CD269 (antígeno de maturação das células B [BCMA, do inglês, *B cell maturation antigen*])	20 kDa; superfamília do TNFR	Células B	Receptor de BAFF e APRIL, medeia a sobrevivência de células B
CD273 (PD-L2)	25 kDa; superfamília de Ig; estruturalmente homólogo ao B7	Células dendríticas, monócitos, macrófagos	Ligante para PD-1; inibe a ativação de células T
CD274 (PD-L1)	33 kDa; superfamília de Ig; estruturalmente homólogo ao B7	Leucócitos, outras células	Ligante para PD-1; inibe a ativação de células T
CD275 (ICOS-ligante)	60 kDa; superfamília de Ig; estruturalmente homólogo ao B7	Células B, células dendríticas, monócitos	Liga-se ao ICOS (CD278); coestimulação de células T
CD278 (coestimulador induzível [ICOS, do inglês, *inducible costimulator*])	55-60 kDa; superfamília de Ig; estruturalmente homólogo ao CD28	Células T ativadas	Liga-se ao ICOS-L (CD275); coestimulação de células T
CD279 (PD1)	55 kDa; superfamília de Ig; estruturalmente homólogo ao CD28	Células T e B ativadas	Liga-se ao PD-L1 e PD-L2; inibe a ativação de células T

Número CD (Outros Nomes)	Estrutura Molecular, Família	Principal Expressão Celular	Função(ões) Conhecida(s) ou Proposta(s)
CD303 (BDCA2, CLEC4C)	25 kDa; superfamília de lectinas tipo C	Células dendríticas plasmocitoides	Liga-se a carboidratos microbianos; inibe a ativação de células dendríticas
CD304 (BDCA4, neuropilina)	103 kDa; ligante do complemento; fator de coagulação V/VIII, domínios de meprina	Células dendríticas plasmocitoides, muitos outros tipos celulares	Receptor do fator A de crescimento do endotélio vascular
CD314 (NKG2D)	42 kDa; lectina tipo C	Células NK, células T $CD8^+$; células NKT, algumas células mieloides	Liga-se ao MHC de classe I, e às moléculas classe I-símiles MIC-A, MIC-B, Rae1 e ULBP4; papel na ativação de células NK e CTL
CD357 (GITR, TNFRSF18)	26 kDa; superfamília do TNFR	Células T $CD4^+$ e $CD8^+$, Treg	? Papel na tolerância de células T/função Treg
CD363 (receptor 1 de esfingosina 1-fosfato do tipo 1 [S1PR1, do inglês, *sphingosine-1-phosphate receptor 1*])	42,8 kDa; família de receptores de 7 domínios transmembranas, acoplados à proteína G	Linfócitos, células endoteliais	Liga-se à esfingosina 1-fosfato e medeia a quimiotaxia de linfócitos para fora dos órgãos linfoides
CD365 (receptor celular 1 do vírus da hepatite A [HAVCR1, do inglês, *hepatitis A virus cellular receptor 1*], TIM-1)	38,7 kDa; superfamília de Ig, transmembrana nas células T, imunoglobulina e família de mucinas	Células T, rim e testículos	Receptor de vários vírus; modulação das respostas de célula T

Número CD (Outros Nomes)	Estrutura Molecular, Família	Principal Expressão Celular	Função(ões) Conhecida(s) ou Proposta(s)
Modulação de CD366 (receptor celular 2 do vírus da hepatite A [HAVCR2], TIM-3)	33,4 kDa; superfamília de Ig, transmembrana nas células T, imunoglobulina e família de mucinas	Células T, macrófagos, células dendríticas e células NK	Receptor para vários vírus; liga-se à fosfatidilserina das células apoptóticas; inibe a resposta de células T
CD369 (família 7 dos domínios de lectina tipo C [CLEC7A], DECTINA 1)	27,6 kDa; lectina tipo C	Células dendríticas, monócitos, macrófagos, células B	Receptor de padrão específico para glucanas da parede celular fúngica e bacteriana

CCDA, citoxicidade celular dependente de anticorpo; *APRIL*, um ligante indutor de proliferação; *BAFF*, fator ativador de célula B pertencente à família do TNF; *CTL*, linfócito T citotóxico; *gp*, glicoproteína; *EGFR*, receptor do fator de crescimento epidermal; *GITR*, indutor de glicorticóide relacionado ao TNFR; *GPI*, glicofosfatidilinositol; *ICAM*, molécula de adesão intercelular; *Ig*, imunoglobulina; *IL*, interleucina; *ITAM*, motivo de ativação com base na tirosina do imunorreceptor; *ITIM*, motivo de inibição baseado na tirosina do imunorreceptor; *LFA*, antígeno associado à função do linfócito; *LPS*, lipopolissacarídeo; *MadCAM*, molécula de adesão celular adressina de mucosa; *MHC*, complexo principal de histocompatibilidade; *Células NK,* células *natural killer*; *PAMPs*, padrões moleculares associados a patógenos; *TACI*, ativador transmembrana que interage com CAML; *TCR*, receptor de células T; *TLR*, receptor do tipo *Toll*; *TNF*, fator de necrose tumoral; *TNFR*, receptor de TNF; *VCAM*, molécula de adesão de células vasculares; *VLA*, ativação muito tardia. **As letras minúsculas associadas a alguns números de CD referem-se a moléculas CD que são codificadas por múltiplos genes ou que pertencem a famílias de proteínas estruturalmente relacionadas.**

APÊNDICE III

Técnicas de Laboratório Comumente Usadas em Imunologia

MÉTODOS LABORATORIAIS USANDO ANTICORPOS
- Quantificação de Antígeno por Imunoensaios
- Identificação e Purificação de Proteínas
- Imunoprecipitação e Cromatografia por Imunoafinidade
- *Western Blotting*
- Marcação e Detecção de Antígenos em Células e Tecidos
- Citometria de Fluxo
- Ensaios de Citocina com *Beads*
- Purificação de Células
- Imunofluorescência e Imuno-histoquímica
- Quantificação das Interações Antígeno-anticorpo

CAMUNDONGO TRANSGÊNICO E GENES-ALVO

MÉTODOS DE ESTUDO DAS RESPOSTAS DE LINFÓCITOS T
- Ativação Policlonal de Células T
- Ativação Antígeno-induzida de Populações Policlonais de Células T
- Ativação Antígeno-induzida de Populações de Células T com Especificidade Antigênica Única
- Métodos de Enumeração e Estudo das Respostas Funcionais de Células T

MÉTODOS DE ESTUDO DAS RESPOSTAS DE LINFÓCITOS B
- Ativação de Populações de Células B Policlonais

Ativação Antígeno-induzida de Populações de Células B com Especificidade Antigênica Única
Ensaios para Medir a Proliferação das Células B e a Produção de Anticorpos
APLICAÇÕES DOS IMUNOENSAIOS NO DIAGNÓSTICO CLÍNICO
Citometria de Fluxo para Determinar os Números de Subpopulações de Células Imunes Circulantes

As técnicas imunológicas são amplamente usadas tanto em laboratórios de pesquisa como nos contextos clínicos, e muitas dessas técnicas são baseadas no uso de anticorpos. Adicionalmente, muitas técnicas de biologia molecular moderna fornecem informações valiosas sobre o sistema imune e também estão sendo empregadas na análise de características imunes das doenças, para fins diagnósticos. Mencionamos essas técnicas com frequência ao longo de todo o livro. Neste apêndice, descreveremos os princípios subjacentes a alguns dos métodos laboratoriais mais comumente utilizados em Imunologia. Adicionalmente, resumiremos como se dá o estudo das respostas de linfócitos B e T usando técnicas laboratoriais. Os detalhes sobre a execução de diversos ensaios podem ser encontrados em manuais de laboratório e artigos científicos.

Métodos Laboratoriais Usando Anticorpos

A extraordinária especificidade de anticorpos para antígenos particulares faz com que os anticorpos sejam reagentes valiosos para a detecção, purificação e quantificação de antígenos. Dada a possibilidade de produzir anticorpos contra quase qualquer tipo de macromolécula e pequenos compostos químicos, podemos usar técnicas à base de anticorpos para estudar praticamente qualquer tipo de molécula em solução ou nas células. O método de produção de anticorpos monoclonais (Capítulo 5) aumentou significativamente a nossa capacidade de gerar anticorpos com praticamente qualquer especificidade desejada. Da perspectiva histórica, muitos usos dos anticorpos dependem da habilidade de o anticorpo e o antígeno específico formarem imunocomplexos grandes, seja em solução ou em géis, que possam ser detectados por diversos métodos ópticos. Esses métodos tiveram grande relevância nos estudos iniciais, mas agora foram quase totalmente substituídos por métodos mais simples com base em anticorpos ou antígenos imobilizados.

Quantificação de Antígeno por Imunoensaios

Os métodos imunológicos de quantificação da concentração de antígeno fornecem sensibilidade e especificidade extraordinárias, tendo se tornado as técnicas padrão para aplicações tanto em pesquisa como na clínica. A base de todos os métodos imunoquímicos quantitativos modernos é ter um antígeno ou anticorpo puro cuja quantidade possa ser medida usando uma molécula indicadora (ou marcação). Quando o antígeno ou anticorpo é marcado com um radioisótopo, do modo como primeiramente introduzido por Rosalyn Yalow e colaboradores, é possível quantificá-lo por meio de instrumentos que detectam os eventos de decaimento radioativo; o ensaio é chamado **radioimunoensaio (RIA, do inglês, *radioimmunoassay*)**. Atualmente, é mais comum que o antígeno ou o anticorpo seja acoplado de forma covalente a uma enzima e então quantificado por meio da determinação em espectrofotômetro da taxa de conversão pela ação enzimática de um substrato claro em um produto colorido. Esse ensaio é chamado **ensaio imunossorvente ligado à enzima (Elisa, do inglês, *enzyme-linked immunosorbent assay*)**. Existem algumas variações do RIA e do Elisa, contudo a versão mais comumente usada é o

ensaio sanduíche (Fig. A.1). O ensaio sanduíche emprega dois anticorpos diferentes que reagem com epítopos distintos no antígeno cuja concentração precisa ser determinada. Uma quantidade fixa de um anticorpo é ligada a uma série de suportes sólidos em replicata, como os poços de placas de plástico para microtitulação. As soluções de teste contendo antígeno em uma concentração desconhecida ou uma série de soluções-padrão com concentrações conhecidas de antígeno são adicionadas aos poços para que ocorra a ligação. O antígeno não ligado é removido por lavagem e o anticorpo secundário, que está ligado a uma enzima ou foi radiomarcado, é adicionado para se ligar. O antígeno serve de ponte, de modo que quanto mais antígeno houver no teste ou nas soluções padrão, mais ligação ocorrerá do anticorpo secundário ligado à enzima ou radiomarcado. Os resultados obtidos com as soluções padrão são usados para construir uma curva de ligação para o anticorpo secundário em função da concentração de antígeno, a partir da qual as quantidades de antígeno nas soluções de teste poderão ser estimadas. Quando o teste é realizado com dois anticorpos monoclonais, é essencial que os anticorpos encontrem determinantes não sobrepostos no antígeno; caso contrário, o anticorpo secundário não pode se ligar. A abordagem de Elisa sanduíche foi adaptada para muitos testes rápidos e testes domésticos em que a geração enzimática de um produto colorido é prontamente determinada por espectrofotômetros portáteis ou, no caso dos testes de gravidez de uso comum, com os olhos.

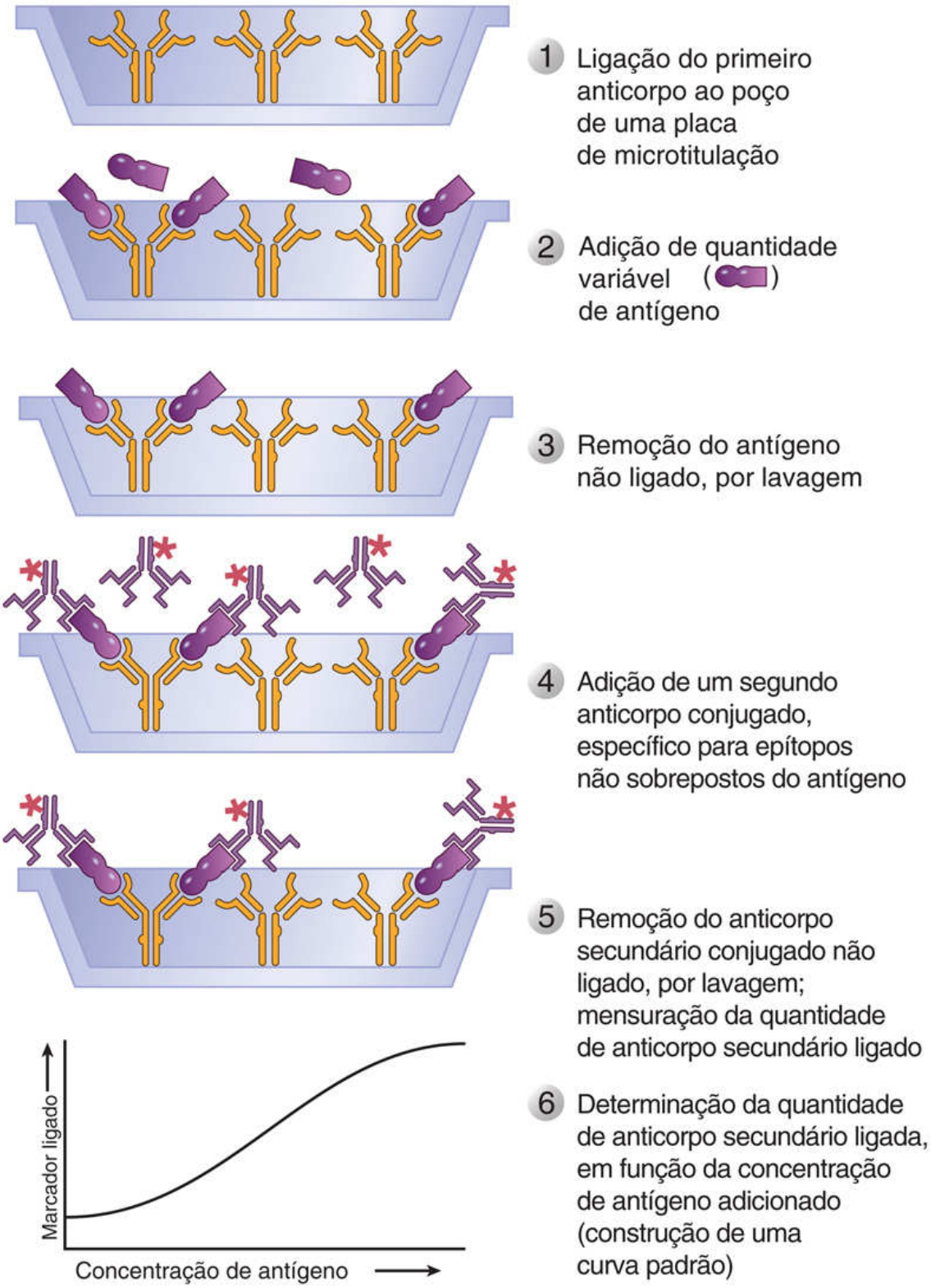


FIGURA A.1 Ensaio imunossorvente ligado à enzima ou radioimunoensaio do tipo sanduíche.
Uma quantidade fixa de um anticorpo imobilizado é usada para

capturar um antígeno. A ligação de um segundo anticorpo marcado, que reconhece um determinante não sobreposto no antígeno aumentará proporcionalmente à concentração do antígeno, permitindo assim sua quantificação.

Em uma importante variante clínica dos imunoensaios de ligação, amostras obtidas de pacientes podem ser testadas quanto à presença de anticorpos específicos para um antígeno microbiano (p. ex.: anticorpos reativos com proteínas do vírus da imunodeficiência humana [HIV, do inglês, *human immunodeficiency virus*] ou do vírus da hepatite B) como indicadores de infecção. Nesse caso, uma quantidade saturante de antígenos é adicionada aos poços em replicata contendo anticorpos previamente ligados à placa, e o soro do paciente então é diluído de forma seriada para que ocorra ligação. A quantidade de anticorpo do paciente ligado ao antígeno imobilizado é determinada usando um anticorpo secundário anti-imunoglobulina (-Ig) humana acoplado a uma enzima.

Identificação e Purificação de Proteínas

É possível usar anticorpos para identificar e caracterizar proteínas, bem como para purificar proteínas específicas das misturas. Dois métodos comumente usados para identificar e purificar proteínas são a imunoprecipitação e a cromatografia por imunoafinidade. O *Western Blotting* é uma técnica amplamente usada para determinar a presença e o tamanho de uma proteína em uma amostra biológica.

Imunoprecipitação e Cromatografia por Imunoafinidade

A imunoprecipitação é uma técnica em que um anticorpo específico para um antígeno proteico em uma mistura de proteínas é usado para identificar este antígeno específico (Fig. A.2A). O anticorpo tipicamente é adicionado a uma mistura de proteínas (em geral, um lisado de células específicas com detergente) e a proteína A estafilococócica (ou proteína G) é acoplada por ligação covalente a *beads* (esferas) de agarose e adicionada à mistura. As porções Fab do anticorpo se ligam à proteína-alvo e a porção Fc do anticorpo é capturada pela proteína A ou G conjugadas às *beads*. As proteínas indesejadas que não se ligam ao anticorpo são então removidas pela lavagem das *beads* (com a adição de detergente e centrifugação, repetidas vezes). A proteína específica reconhecida e agora ligada ao anticorpo pode ser eluída das *beads* e dissociada do anticorpo usando um

desnaturante forte (como o dodecil sulfato de sódio), e as proteínas são separadas por eletroforese em gel de poliacrilamida contendo dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE, do inglês, *sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis*). As proteínas podem ser detectadas após a eletroforese corando o gel de poliacrilamida com um corante de proteínas ou por análise de *Western Blot* (descrita adiante). Se na mistura original houver proteínas radiomarcadas, as proteínas específicas imunoprecipitadas pelo anticorpo poderão ser reveladas por autofluorografia ou autorradiografia, com as bandas proteicas sendo capturadas em uma chapa de raio X colocada sobre o gel de poliacrilamida-SDS seco contendo as proteínas separadas.

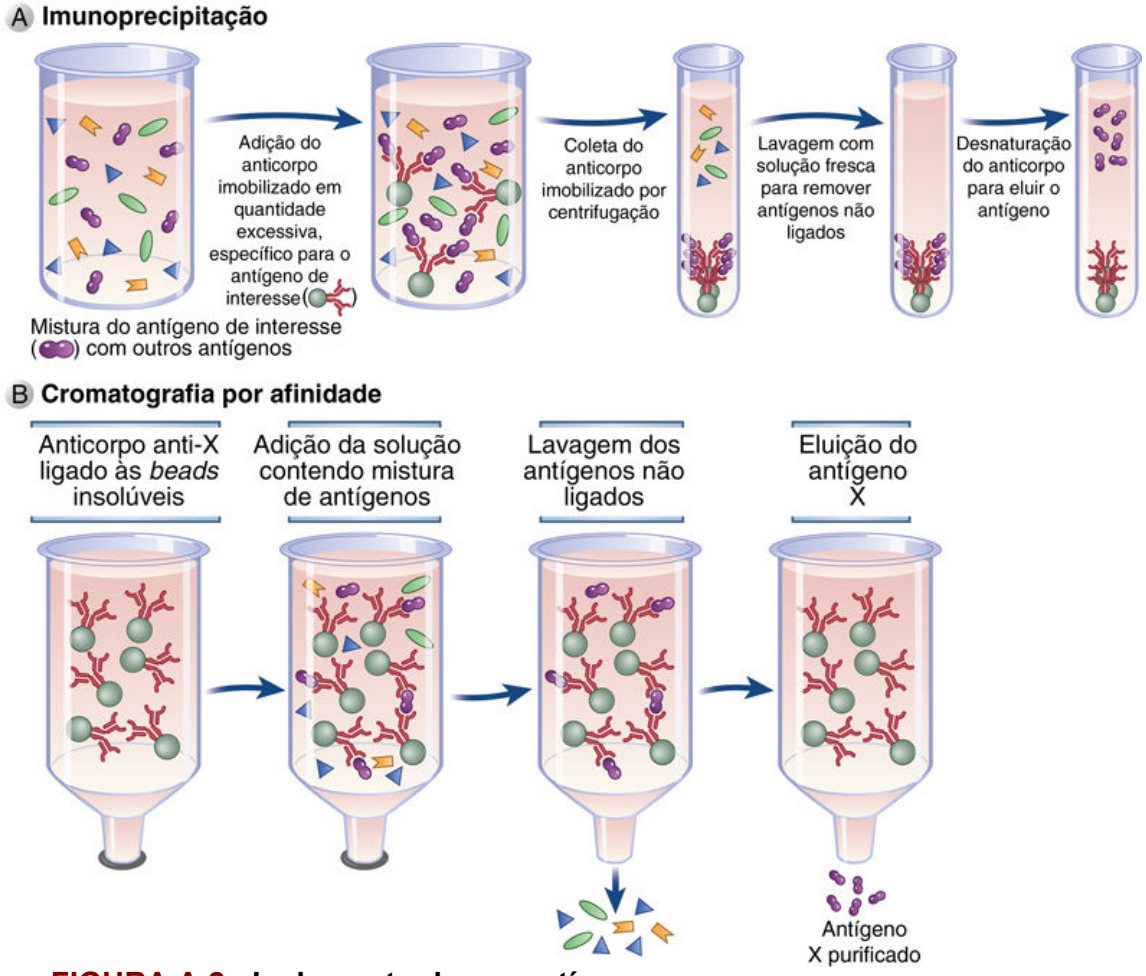


FIGURA A.2 Isolamento de um antígeno por imunoprecipitação ou cromatografia por afinidade. **A,** Um antígeno particular pode ser purificado a partir de uma mistura de antígenos no soro ou em outras soluções, por meio da adição de anticorpos específicos para esse antígeno ligados a *beads* insolúveis. Os antígenos não ligados são então lavados, e o antígeno desejado é recuperado alterando o pH ou a força iônica da solução, de modo que a afinidade da ligação antígeno-anticorpo seja diminuída. A imunoprecipitação pode ser usada como meio de purificação, como meio de quantificação ou como meio de identificação de um antígeno. Antígenos purificados por imunoprecipitação são frequentemente analisados por eletroforese em gel de poliacrilamida-dodecil sulfato de sódio. **B,** A cromatografia por afinidade é baseada no mesmo princípio que o da imunoprecipitação, exceto que o anticorpo é fixo a uma matriz ou em *beads* insolúveis, em geral em uma coluna. O método é usado com frequência para isolar antígenos solúveis (*mostrado*) ou anticorpos específicos para um antígeno imobilizado.

A cromatografia por imunoafinidade, uma variante da cromatografia por afinidade, é um método de purificação com base em anticorpos ligados a um suporte insolúvel para purificação de antígenos em uma solução (Fig. A.2B). Anticorpos específicos para o antígeno desejado tipicamente são ligados de modo covalente a um suporte sólido, como *beads* de agarose, e transferidos para uma coluna. Uma mistura complexa de antígenos é passada ao longo das *beads*, para permitir que o antígeno reconhecido pelo anticorpo seja ligado. As moléculas não ligadas são lavadas e o antígeno ligado é eluído alterando o pH ou por meio da exposição a uma alta concentração de sal ou outras condições caotrópicas que quebrem as interações antígeno-anticorpo. Um método similar pode ser usado para purificar anticorpos dos sobrenadantes de cultura ou fluidos naturais, como o soro, primeiramente fixando o antígeno às *beads* e então passando os sobrenadantes ou soro ao longo deles.

Western Blotting

O *Western Blotting* (Fig. A.3) é usado para identificar e determinar a quantidade relativa e o peso molecular de uma proteína em uma mistura de proteínas ou outras moléculas. A mistura é primeiro submetida à separação analítica, tipicamente por SDS-PAGE, de modo que as posições finais de diferentes proteínas no gel sejam uma função de seus tamanhos moleculares. O conjunto de proteínas separadas é, então, transferido por eletroforese de um gel de poliacrilamida para uma membrana de suporte, de modo que a membrana adquire uma réplica do conjunto de macromoléculas separadas presentes no gel. O SDS é deslocado da proteína durante o processo de transferência, e os determinantes antigênicos nativos muitas vezes são recuperados conforme a proteína se dobra novamente. A posição do antígeno proteico na membrana pode, então, ser detectada por meio da ligação de um anticorpo não marcado específico para essa proteína (anticorpo primário), seguido de um anticorpo secundário que se liga ao anticorpo primário. Essa abordagem fornece informação sobre o tamanho e a quantidade de antígeno. Em geral, as sondas de anticorpo secundário são marcadas com enzimas geradoras de sinais de quimioluminescência e imprimem imagens em filme fotográfico. Fluoróforos próximos da faixa do infravermelho também podem ser usados para marcar anticorpos, sendo que a luz produzida pela excitação do fluoróforo proporciona uma quantificação mais precisa do antígeno, em comparação àquela feita com anticorpos secundários conjugados a uma enzima. A sensibilidade e especificidade dessa técnica

podem ser aumentadas começando com proteínas imunoprecipitadas em vez de misturas de proteínas brutas. Esse procedimento sequencial é especialmente útil para detecção de interações proteína-proteína. Exemplificando, a associação física de duas proteínas diferentes na membrana de um linfócito pode ser estabelecida fazendo a imunoprecipitação de um extrato de membrana, com o uso de um anticorpo específico para uma das proteínas e a sondagem por *Western Blot* do imunoprecipitado usando um anticorpo específico para a segunda proteína que pode ter sido coimunoprecipitada com a primeira proteína.

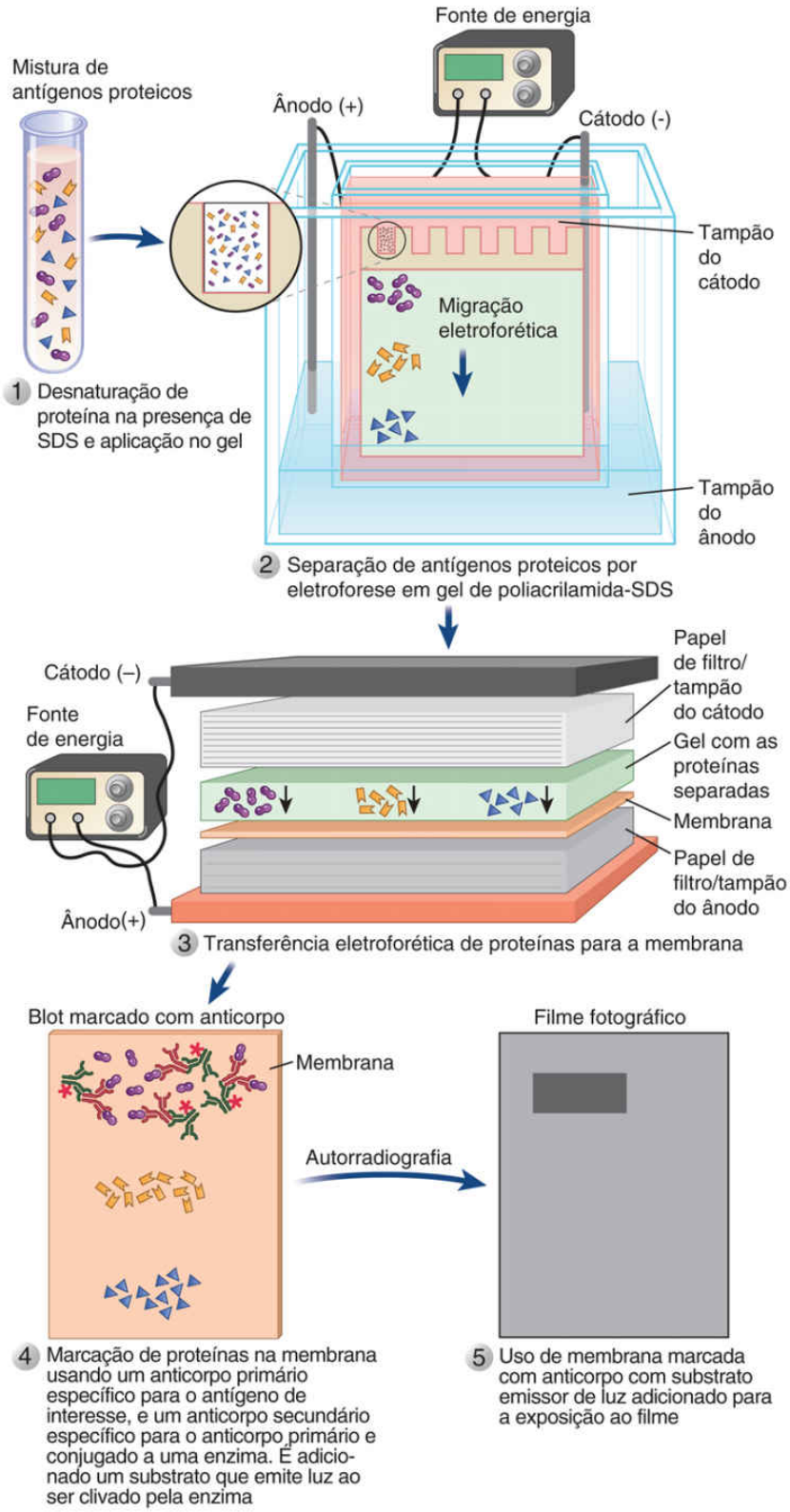


FIGURA A.3 Caracterização de antígenos por *Western blotting*.
Antígenos proteicos, separados por eletroforese em gel de

poliacrilamida com dodecil sulfato de sódio (SDS) e transferidos para uma membrana, podem ser detectados por um anticorpo que, por sua vez, é revelado por um anticorpo secundário que pode estar conjugado a uma enzima como a peroxidase de raiz forte, ou a um fluoróforo.

A técnica de transferência de proteínas de um gel para uma membrana é chamada *Western blotting*, em alusão a uma piada de bioquímico. "Southern" é o sobrenome do primeiro cientista a fazer *blotting* de DNA de um gel de separação para uma membrana, por transferência capilar, e essa técnica desde então passou a ser chamada *Southern blotting*. Por analogia, *Northern blotting* foi o termo aplicado à técnica de transferência de RNA de um gel para uma membrana, e *Western blotting*, então, é o termo usado para descrever a transferência de proteínas a uma membrana.

Marcação e Detecção de Antígenos em Células e Tecidos

Anticorpos específicos para antígenos expressos na superfície ou no interior de tipos celulares particulares são comumente usados para identificar essas células em tecidos ou suspensões celulares, e separar as células de populações mistas. Nesses métodos, o anticorpo pode ser radiomarcado, acoplado a uma enzima ou, mais frequentemente, receber marcação fluorescente, e um sistema de detecção capaz de identificar o anticorpo ligado é usado. Anticorpos fixos em *beads* magnéticas podem ser usados para isolar fisicamente células que expressem antígenos específicos.

Citometria de Fluxo

A linhagem tecidual, o estágio de maturação ou o estado de ativação de uma célula muitas vezes podem ser determinados analisando a superfície celular ou a expressão intracelular de diferentes moléculas. Isso comumente é feito corando a célula com sondas contendo marcação fluorescente específicas para as moléculas e quantificando a intensidade de fluorescência emitida pela célula (Fig. A.4). O citômetro de fluxo é um equipamento especializado capaz de detectar fluorescência em células individuais contidas em uma suspensão e, desse modo, determinar o número de células que expressam a molécula na qual a sonda se liga. Suspensões celulares são incubadas com sondas marcadas com fluorescência, e a quantidade de sonda ligada por cada célula na

população é medida passando as células, uma de cada vez, em um fluorímetro acoplado a um feixe incidente gerado a laser. As quantidades relativas de uma molécula particular em diferentes populações celulares podem ser comparadas marcando cada população com a mesma sonda e determinando a quantidade de fluorescência emitida. Na preparação para a análise de citometria de fluxo, as suspensões celulares são marcadas com as sondas fluorescentes de escolha. Mais frequentemente, essas sondas são anticorpos conjugados com fluorocromo específicos para uma molécula de superfície celular. Alternativamente, as moléculas citoplasmáticas podem ser marcadas permeabilizando temporariamente as células e permitindo que os anticorpos marcados entrem através da membrana plasmática. Em adição aos anticorpos, vários indicadores fluorescentes de concentrações de íons citoplasmáticos e potencial de redução-oxidação podem ser detectados por citometria de fluxo. Estudos de ciclo celular podem ser realizados por análise de citometria de fluxo de células marcadas com sondas fluorescentes que se ligam ao DNA, como o iodeto de propídio. As células apoptóticas podem ser identificadas com sondas fluorescentes, como anexina V, que se liga a fosfolipídeos anormalmente expostos na superfície de células que estão morrendo. Os citômetros de fluxo modernos podem rotineiramente detectar três ou mais sinais fluorescentes de diferentes cores, cada um dos quais associado a um anticorpo diferente ou a outra sonda. Esta técnica permite a análise concomitante da expressão de muitas combinações distintas de moléculas por célula. Além de detectar sinais fluorescentes, os citômetros de fluxo também medem as propriedades de dispersão frontal e lateral das células pela luz, a qual reflete o tamanho e a complexidade celular, respectivamente. Essa informação costuma ser usada para distinguir diferentes tipos celulares. Por exemplo, em comparação com os linfócitos, os neutrófilos causam maior dispersão lateral, devido aos seus grânulos citoplasmáticos, enquanto os monócitos causam maior dispersão frontal devido ao seu tamanho.

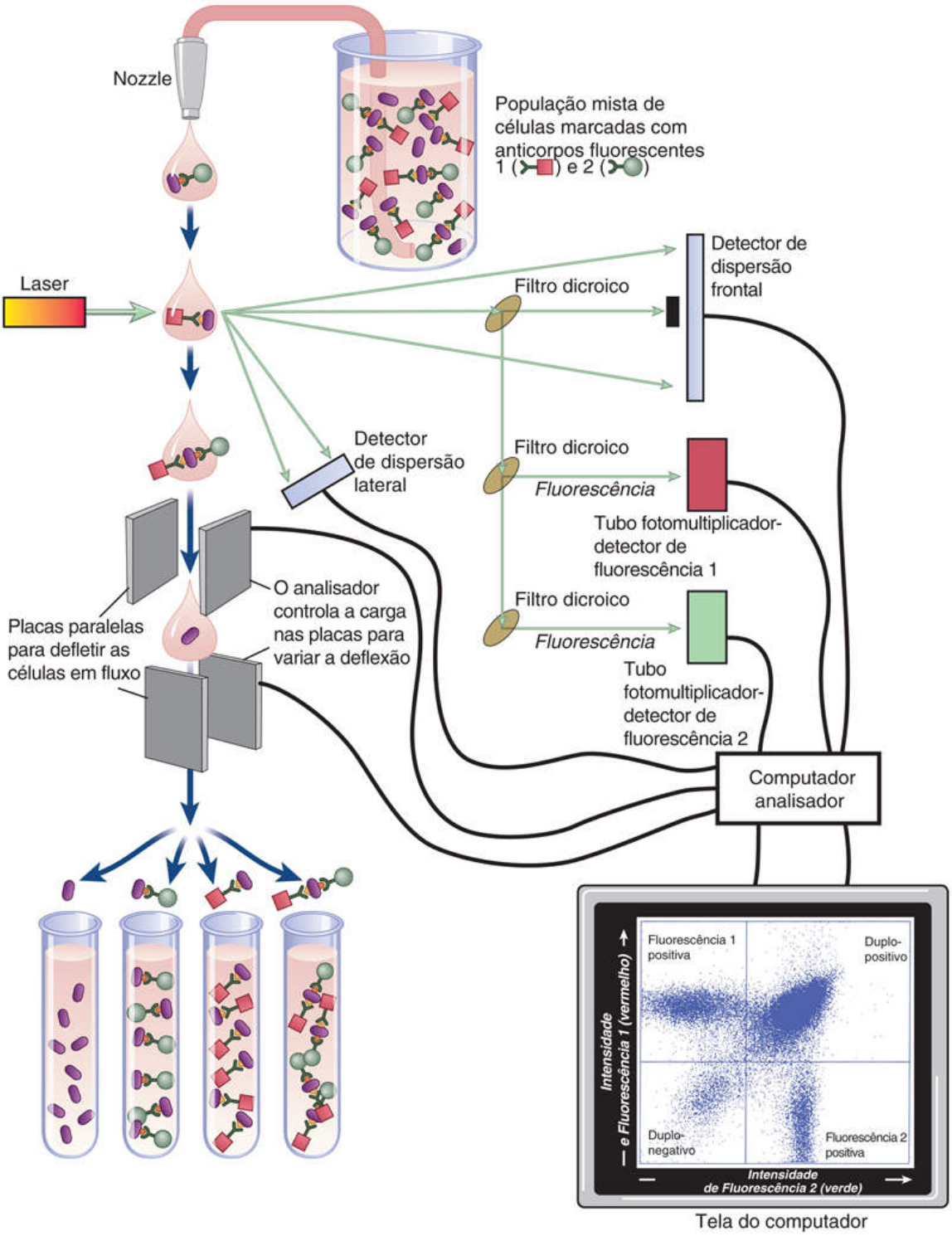


FIGURA A.4 Princípio da citometria de fluxo e da separação celular ativada por fluorescência.
O feixe de laser incidente tem comprimento de onda determinado. A luz que emerge da amostra é analisada quanto à dispersão frontal e lateral, bem como para a luz fluorescente de dois ou mais comprimentos de onda dependentes das marcações de fluorocromo

acopladas aos anticorpos. A separação aqui ilustrada se baseia em dois marcadores antigênicos (separação em duas cores). Os aparelhos modernos conseguem analisar e separar rotineiramente populações celulares, com base em três ou mais sondas de cores distintas.

Uma tecnologia recém-desenvolvida baseada em anticorpo, chamada citometria de massa, combina a tecnologia do fluxo de célula única dos citômetros de fluxo à espectrometria de massa. O dispositivo comercialmente disponível usado para esse proposito é chamado **CyTOF**, com as letras "TOF" indicando o tipo *time-of-flight* (tempo de voo) do citômetro de massa. Anticorpos específicos para moléculas de interesse são marcados com qualquer um dentre os numerosos metais pesados existentes, usando um metal para cada especificidade de anticorpo. Esses anticorpos são incubados com a população celular em estudo, e as células são analisadas por um aparelho CyTOF que realiza a espectrometria de massa em células individuais. Diferente das marcações fluorescentes, muitas marcações de metal pesado podem ser resolvidas por espectrometria de massa sem sobreposição, permitindo a detecção de até 100 moléculas diferentes em uma única célula.

Ensaios de Citocina com *Beads*

Nesses ensaios, a concentração de muitas citocinas diferentes em uma única solução pode ser determinada simultaneamente. *Beads* microscópicas de diferentes tamanhos são marcadas com quantidades diferentes de um fluorocromo, como a aloficocianina (APC, do inglês, *allophycocyanin*), e as *beads* são pré-revestidas com um anticorpo citocina-específico. As *beads* de cada especificidade anticitocina podem ser distinguidas umas das outras com base no tamanho e na intensidade da fluorescência da APC. Essas *beads* são misturadas à solução de teste que contém múltiplas citocinas (p. ex.: soro ou sobrenadantes de culturas de linfócito). Cada citocina se ligará apenas às *beads* de tamanho e intensidade de fluorescência particulares. Anticorpos biotinilados de detecção específicos para cada citocina são adicionados para formar "sanduíches" de anticorpo-antígeno, e a estreptavidina conjugada à ficoeritrina (PE, do inglês, *phycoerythrin*) é adicionada para a detecção destes sanduíches. As *beads* são analisadas simultaneamente por um aparelho detector com base em fluxo contendo dois laser. Um laser identifica a *bead* e determina a citocina que está sendo detectada. O outro laser mede a intensidade do sinal de fluorescência da PE, que tem relação direta com a quantidade de

citocina ligada. Soluções-padrão contendo concentrações conhecidas das citocinas são usadas para calibrar os resultados.

Purificação de Células

Um **separador celular ativado por fluorescência** (FACS, do inglês, *fluorescent-activated cell sorter*) é uma adaptação do citômetro de fluxo que permite separar populações celulares de acordo com qual sonda fluorescente e com que quantidade dessa sonda elas se ligam. Essa técnica consiste em desviar diferencialmente as células com campos eletromagnéticos cuja força e direção são variadas conforme a intensidade do sinal fluorescente medido (Fig. A.4). As células podem ser marcadas *ex vivo* com anticorpos conjugados com fluorescência ou, no caso de estudos experimentais com animais, a marcação pode ser realizada *in vivo* pela expressão de transgenes codificadores de proteínas fluorescentes, como a proteína fluorescente verde. (A tecnologia transgênica é descrita adiante neste apêndice.)

Outra técnica comumente usada para purificar células com um fenótipo em particular se baseia em anticorpos ligados a *beads* magnéticas. Esses "reagentes imunomagnéticos" se ligarão a certas células, dependendo da especificidade do anticorpo usado, e as células ligadas podem então ser extraídas da suspensão com um ímã forte.

Imunofluorescência e Imuno-histoquímica

Anticorpos podem ser usados para identificar a distribuição anatômica de um antígeno junto a um tecido ou compartimentos de uma célula. Para tanto, o tecido ou a célula é incubada com um anticorpo conjugado com um fluorocromo ou enzima, e a posição da marcação, determinada com um microscópio adequado, é usada para inferir a posição do antígeno. Na versão mais antiga desse método, chamada imunofluorescência, o anticorpo era conjugado com um corante fluorescente e colocado em contato com uma monocamada de células ou um corte de tecido congelado, para fins de ligação. As células ou os tecidos corados eram examinados com um microscópio fluorescente, para localizar o anticorpo. Apesar de sensível, o microscópio fluorescente não é uma ferramenta ideal para identificar as estruturas detalhadas da célula ou tecido, devido a baixa razão sinal:ruído. Esse problema foi superado pelas novas tecnologias, entre as quais a microscopia confocal, que usa a tecnologia dos cortes ópticos para filtrar a luz fluorescente desfocada, e a microscopia de dois fótons, que previne a formação de luz desfocada.

Alternativamente, os anticorpos podem ser acoplados a enzimas que convertem substratos incolores em substâncias insolúveis coloridas que precipitam na posição da enzima. Um microscópio de luz convencional pode então ser usado para localizar o anticorpo em uma célula ou tecido corado. A variante mais comum desse método emprega a enzima peroxidase de raiz forte, e o método comumente é referido como técnica de imunoperoxidase. Outra enzima comumente usada é a fosfatase alcalina. Diferentes anticorpos acoplados a diferentes enzimas podem ser usados em conjunto para produzir localizações bicolores simultâneas de diferentes antígenos. Em outras variações, o anticorpo pode ser acoplado a uma sonda eletrondensa, como ouro coloidal, e a localização do anticorpo pode ser determinada subcelularmente por meio de um microscópio eletrônico, uma técnica chamada microscopia imunoeletrônica. Partículas de ouro de diferentes tamanhos têm sido usadas para localização simultânea de diferentes antígenos ao nível ultraestrutural.

Em todos os métodos imunomicroscópicos, os sinais podem ser intensificados usando técnicas sanduíche. Exemplificando, em vez de acoplar a peroxidase de raiz forte a um anticorpo murino específico dirigido contra o antígeno de interesse, (p. ex.: anticorpo de coelho anti-Ig murina) usado para ligação ao primeiro anticorpo não marcado. Quando a marcação é acoplada diretamente ao anticorpo primário específico, o método é referido como direto; quando a marcação é acoplada a um anticorpo secundário ou até terciário, o método é indireto. Em alguns casos, outras moléculas que não um anticorpo podem ser usadas em métodos indiretos. Por exemplo, a proteína A de estreptococos, que se liga à IgG, ou à avidina, que se liga a anticorpos primários marcados com biotina, podem ser acopladas a fluorocromos ou enzimas.

Quantificação das Interações Antígeno-anticorpo

Em muitas situações, é importante saber a afinidade de um anticorpo por um antígeno. Exemplificando, a utilidade de um anticorpo monoclonal, como um reagente experimental ou terapêutico, depende de sua afinidade. As afinidades de anticorpos pelos antígenos podem ser medidas diretamente para os antígenos pequenos (p. ex.: haptenos), com um método chamado diálise de equilíbrio (Fig. A.5). Nesse método, uma solução de anticorpos é confinada junto a uma membrana de celulose porosa "semipermeável" e imersa em uma solução contendo o antígeno. (Nesse contexto, *semipermeável* significa que pequenas moléculas, como um antígeno, podem passar livremente pelos poros da membrana enquanto as

macromoléculas, como o anticorpo, não conseguem passar.) Na ausência de anticorpos junto ao compartimento ligado à membrana, o antígeno contido na solução de banho entra até sua concentração nesse compartimento se tornar exatamente igual à concentração no lado externo. Outra forma de ver o sistema é que, no equilíbrio dinâmico, o antígeno entra e sai do compartimento ligado à membrana exatamente na mesma velocidade. Entretanto, quando o anticorpo está presente no lado interno da membrana, a quantidade líquida de antígeno dentro da membrana no equilíbrio aumenta pela quantidade que está ligada ao anticorpo. Este fenômeno ocorre porque somente o antígeno não ligado pode se difundir através da membrana e, no ponto de equilíbrio, é a concentração de antígeno não ligado que deve ser idêntica no lado interno e no lado externo da membrana. A extensão do aumento no antígeno no lado interno da membrana depende da concentração de antígeno, da concentração de anticorpo e da constante de dissociação (K_d) da interação de ligação. A K_d pode ser calculada medindo as concentrações de antígeno e anticorpo, por espectroscopia ou por outros meios.

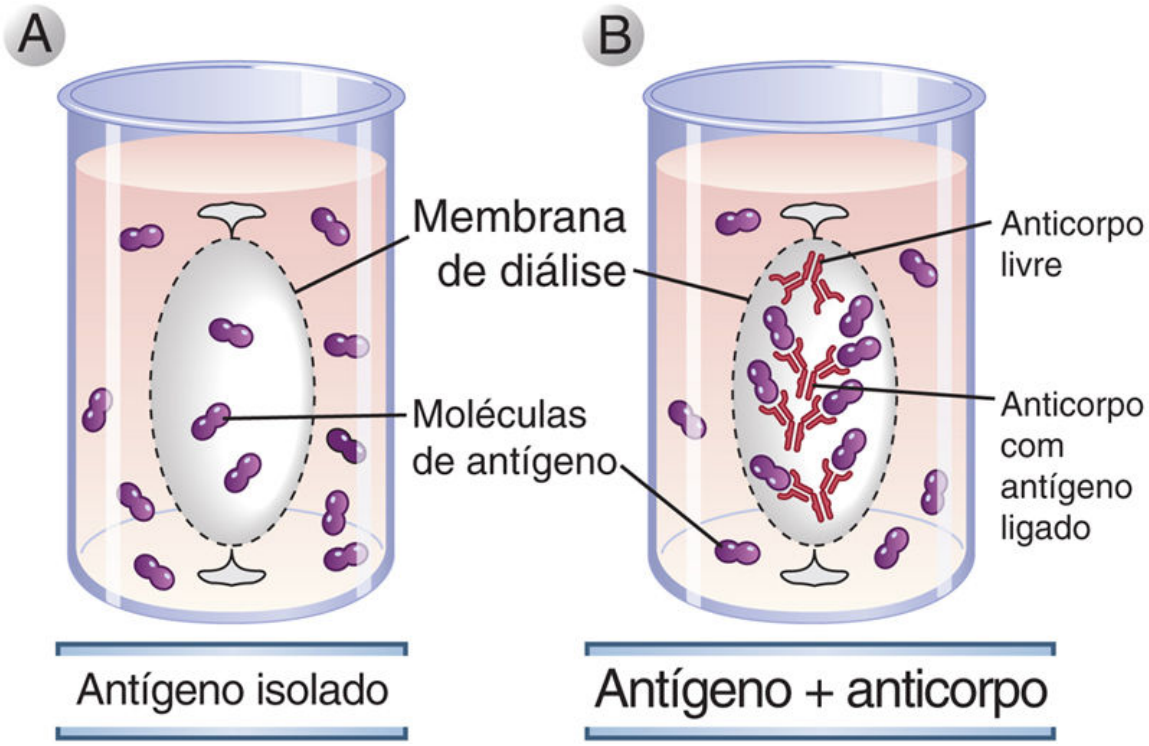


FIGURA A.5 Análise da ligação antígeno-anticorpo por diálise de equilíbrio.
Na presença de anticorpo **(B)**, a quantidade de antígeno junto à membrana de diálise é maior, se comparada a observada sem anticorpo **(A)**. Como descrito no livro, esta diferença (causada pela ligação do antígeno ao anticorpo) pode ser usada para medir a afinidade do anticorpo pelo antígeno. Esse experimento pode ser realizado apenas quando o antígeno é uma molécula pequena (p. ex.: um hapteno) capaz de atravessar livremente a membrana de diálise.

Uma forma alternativa de determinar a K_d é medir as taxas de formação e dissociação de complexos antígeno-anticorpo. Essas taxas dependem, em parte, das concentrações de anticorpo e antígeno, bem como da afinidade da interação. Todos os parâmetros, com exceção das concentrações, podem ser resumidos na forma de constantes de velocidade. E ambas, a constante de associação (K_{on}) e a constante de dissociação (K_{off}), podem ser calculadas experimentalmente determinando as concentrações e velocidades reais de associação ou dissociação, respectivamente. A razão K_{off}/K_{on} permite eliminar todos os parâmetros não relacionados à afinidade e é exatamente igual à constante de dissociação K_d. Portanto, é possível medir K_d no equilíbrio pela diálise de equilíbrio ou calcular K_d

com base nas constantes de velocidade medidas sob condições de não equilíbrio.

Outro método mais comumente usado nos dias de hoje para medir a cinética das interações antígeno-anticorpo depende da ressonância plasmônica de superfície. Nesse método, um instrumento biossensor especializado (como o Biacore, Uppsala, Suécia) usa uma abordagem óptica para medir a afinidade de um anticorpo que passa sobre um antígeno imobilizado sobre um filme metálico. Uma fonte luminosa é focada sobre a placa através de um prisma em um ângulo específico (ressonância), e a luz refletida fornece uma leitura da ressonância plasmônica de superfície. A adsorção de um anticorpo ao antígeno altera a leitura da ressonância plasmônica de superfície e pode fornecer informação sobre a afinidade.

Camundongo Transgênico e Genes-alvo

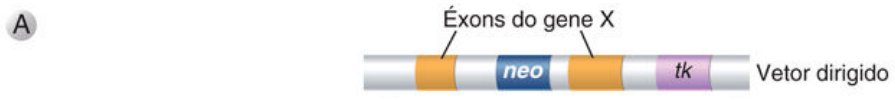
Três métodos importantes e relacionados para estudar os efeitos funcionais de produtos gênicos específicos *in vivo* são: 1) a criação de camundongos transgênicos convencionais com expressão ectópica de um gene particular em um tecido definido; 2) a criação de camundongos *knockout* (deficientes) para um gene, em que a quebra dirigida é usada para eliminar a função de um gene particular; 3) a geração de camundongos *knockin*, em que um gene existente na linhagem germinativa é substituído por uma versão modificada do mesmo gene. Uma abordagem *knockin* poderia tanto substituir uma versão normal de um gene por uma versão mutante como, em princípio, "corrigir" um gene mutante existente com uma versão "normal". Essas técnicas envolvendo camundongos produzidos por engenharia genética têm sido amplamente usadas para analisar muitos fenômenos biológicos, incluindo o desenvolvimento, ativação e tolerância de linfócitos.

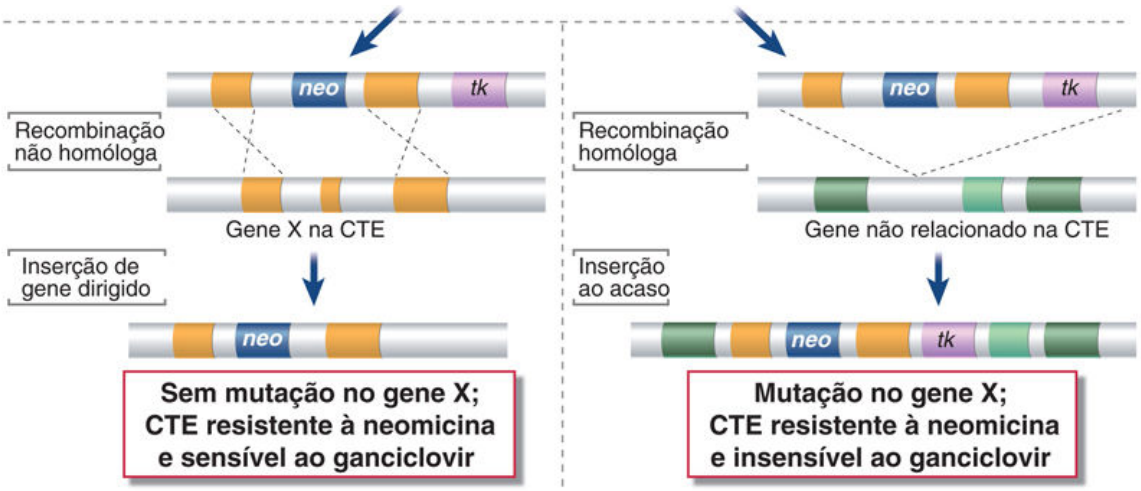
Para a criação de camundongos transgênicos convencionais, sequências de DNA estranhas, chamadas transgenes, são introduzidas nos pró-núcleos de óvulos murinos fertilizados que, então, são implantados nos ovidutos de fêmeas pseudoprenhes. Geralmente, se algumas centenas de cópias de um gene forem injetadas nos pró-núcleos, cerca de 25% dos camundongos nascidos serão transgênicos. De uma a 50 cópias do transgene se inserem em tandem em um sítio aleatório de quebra em um cromossomo, e são subsequentemente herdadas como traço mendeliano simples. Como a integração geralmente ocorre antes da replicação do DNA, a maioria (cerca de 75%) dos filhotes transgênicos carrega o transgene em todas as células, inclusive nas células germinativas. Na maioria dos casos, a integração do DNA estranho não desorganiza a função dos genes endógenos. Além disso, cada camundongo fundador carregando o transgene é um heterozigoto a partir do qual linhagens homozigotas podem ser reproduzidas.

O valor significativo da tecnologia transgênica está na possibilidade de usá-la para expressar genes em tecidos particulares, por meio da fixação de sequências codificadoras do gene a sequências reguladoras que normalmente dirigem a expressão dos genes de maneira seletiva nesses tecidos. Os promotores e intensificadores linfoides, por exemplo, podem ser usados para superexpressar genes, como genes rearranjados de receptores antigênicos, em linfócitos, e o promotor da insulina pode ser usado para expressar genes nas células β das ilhotas pancreáticas.

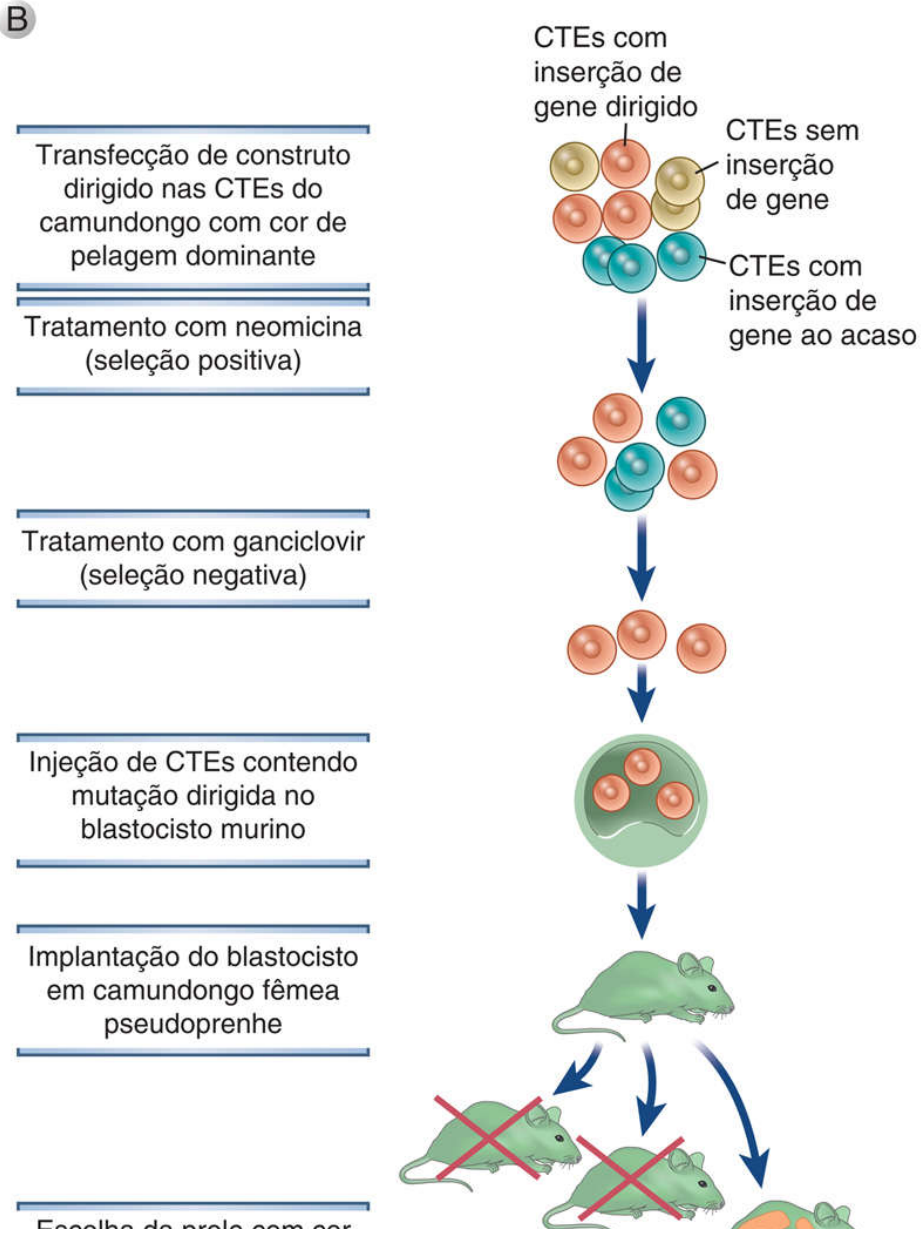
Exemplos da utilidade desses métodos para o estudo do sistema imune são mencionados em muitos capítulos deste livro. Os transgenes também podem ser expressos sob o controle de elementos promotores responsivos a fármacos ou hormônios, como a tetraciclina ou os estrógenos. Nesses casos, a transcrição do transgene pode ser controlada de acordo com a vontade, por meio da administração do agente indutor.

Um método poderoso para o desenvolvimento de modelos experimentais de transtornos monogênicos em animais, e a forma mais definitiva de estabelecer a função obrigatória de um gene *in vivo*, é a criação de camundongos *knockout* por meio de mutação dirigida ou quebra do gene. Essa técnica se baseia principalmente no fenômeno de recombinação homóloga. Se um gene exógeno for inserido em uma célula, por exemplo, por eletroporação, poderá se integrar randomicamente ao genoma da célula. Entretanto, quando o gene contém sequências homólogas a um gene endógeno, recombina-se preferencialmente e substitui as sequências endógenas. Para selecionar as células que passaram por recombinaçãohomóloga, usa-se uma estratégia de seleção fundamentada em fármacos. O fragmento de DNA homólogo a ser inserido na célula é colocado em um vetor que, tipicamente, contém um gene de resistência à neomicina (*neo*) e um gene de timidina quinase viral (*tk*) (Fig. A.6A). Esse vetor dirigido é construído de tal modo que o gene *neo* é sempre inserido no DNA cromossômico, porém o gene *tk* é perdido sempre que ocorre recombinação homóloga (em oposição à inserção aleatória). O vetor é introduzido nas células que são cultivadas com neomicina e ganciclovir, um fármaco que é metabolizado por *tk* para gerar um produto letal. As células em que o gene é aleatoriamente integrado serão resistentes à neomicina, mas serão mortas pelo ganciclovir, enquanto as células em que tiver ocorrido recombinação homóloga serão resistentes a ambos os fármacos, uma vez que o gene *tk* não será incorporado. Essa seleção positivo-negativa garante que o gene inserido nas células sobreviventes tenha sofrido recombinação homóloga com sequências endógenas. A presença do DNA inserido no meio de um gene endógeno geralmente quebra as sequências codificadoras e remove a expressão ou função deste gene. Adicionalmente, vetores dirigidos podem ser projetados para que a recombinação homóloga venha a levar à deleção de um ou mais éxons do gene endógeno.


A
Éxons do gene X
neo
tk
Vetor dirigido


neo
tk
Recombinação não homóloga
Gene X na CTE
Inserção de gene dirigido
neo
Sem mutação no gene X; CTE resistente à neomicina e sensível ao ganciclovir
Recombinação homóloga
Gene não relacionado na CTE
Inserção ao acaso
Mutação no gene X; CTE resistente à neomicina e insensível ao ganciclovir

B


Transfecção de construto dirigido nas CTEs do camundongo com cor de pelagem dominante
Tratamento com neomicina (seleção positiva)
Tratamento com ganciclovir (seleção negativa)
Injeção de CTEs contendo mutação dirigida no blastocisto murino
Implantação do blastocisto em camundongo fêmea pseudoprenhe
CTEs com inserção de gene dirigido
CTEs sem inserção de gene
CTEs com inserção de gene ao acaso

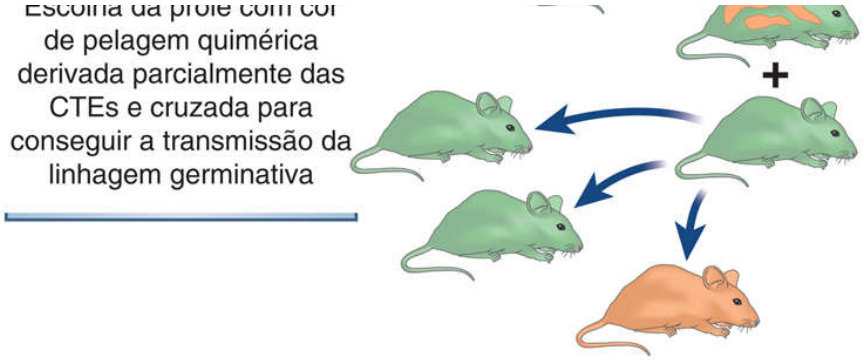


FIGURA A.6 Geração de *knockout* gênico.
A, A quebra do gene X em uma célula-tronco embrionária (CTE) é conseguida por recombinação homóloga. Uma população de CTEs é transfectada com um vetor dirigido contendo sequências homólogas a dois éxons do gene X flanqueando um gene de resistência à neomicina (*neo*). O gene *neo* substitui ou quebra os éxons do gene X em recombinação homóloga. O gene da timidina quinase (*tk*) no vetor será inserido no genoma somente se houver recombinação não homóloga aleatória. **B,** As CTEs transfectadas pelo vetor dirigido são selecionadas pela neomicina e pelo ganciclovir, de modo que somente aquelas células contendo a inserção dirigida (recombinação homóloga) sobrevivem. Essas células são então injetadas em um blastocisto, que, em seguida, é implantado no útero de um camundongo fêmea pseudoprenhe. Um camundongo quimérico irá se desenvolver, no qual alguns tecidos derivam da CTE que carrega a mutação dirigida no gene X. Esses camundongos quiméricos são identificados por uma pelagem de cores mistas, incluindo a cor da linhagem do camundongo a partir da qual as CTEs foram derivadas, e a cor da linhagem murina a partir da qual o blastócito foi derivado. Se a mutação estiver presente nas células germinativas, poderá ser propagada com cruzamentos adicionais.

Para gerar um camundongo portador de uma quebra ou mutação genética dirigida, um vetor dirigido é usado para primeiramente quebrar o gene em uma linhagem de células-tronco embrionárias (CTEs) murinas. As CTEs são células pluripotentes derivadas de embriões murinos que podem ser propagadas e induzidas a se diferenciar em cultura, ou que podem ser incorporadas a um blastocisto murino que, por sua vez, pode ser implantado em uma mãe pseudoprenhe e levado ao termo. É importante notar que a progênie de CTEs se desenvolve normalmente em tecidos maduros que expressarão os genes exógenos transfectados nas CTEs. Assim, o vetor dirigido projetado para quebrar um gene particular é inserido nas CTEs, e as colônias em que houver recombinação homóloga (em um cromossomo) serão selecionadas com fármacos, como descrito

anteriormente (Fig. A.6B). A presença da recombinação desejada é verificada por análise de DNA, empregando técnicas como hibridização por *Southern blot* ou reação em cadeia da polimerase. As CTEs selecionadas são injetadas nos blastocistos e estes são então implantados em fêmeas pseudoprenhes. Os camundongos que se desenvolvem serão quiméricos para uma mutação ou quebra heterozigota, ou seja, alguns tecidos serão derivados das CTEs e outros do restante do blastócito normal. As células da linhagem germinativa em geral também são quiméricas, entretanto, por serem haploides, apenas algumas conterão a cópia de cromossomo com o gene rompido (mutante). Se camundongos quiméricos forem cruzados com animais normais (chamados "selvagens") e os espermatozoides ou óvulos contendo o cromossomo com a mutação se fundirem ao seu correspondente de tipo selvagem, todas as células na prole derivadas deste zigoto serão heterozigotas para a mutação (na chamada transmissão de linhagem germinativa). Esses camundongos heterozigotos podem ser cruzados para gerar animais que serão homozigotos para a mutação com uma frequência previsível por segregação mendeliana simples. Esses camundongos *knockout* são deficientes quanto à expressão do gene-alvo.

A recombinação homóloga também pode ser usada para substituir uma sequência genética normal por uma versão modificada do mesmo gene (ou de outro gene), criando assim uma linhagem de camundongo *knockin*. Camundongos *knockin* podem ser usados para avaliar as consequências biológicas de uma modificação em uma única base, por exemplo, em oposição à deleção de um gene. Uma abordagem *knockin* teoricamente também poderia ser usada para substituir um gene defeituoso por outro normal. Em determinadas circunstâncias, um gene diferente pode ser colocado em um sítio definido no genoma, empregando para tanto uma estratégia *knockin*, em vez de um sítio aleatório, como nos camundongos transgênicos convencionais. As abordagens *knockin* são usadas quando é desejável ter a expressão do transgene regulada por certas sequências de DNA endógeno, como uma região promotora ou intensificadora particular. Nesse caso, o vetor dirigido contém um gene exógeno codificando um produto desejado, bem como sequências homólogas a um gene endógeno necessárias para marcar como alvo o sítio de recombinação.

Embora a estratégia convencional de alvejamento de genes tenha se mostrado bastante útil na pesquisa em Imunologia, a abordagem tem algumas limitações. Primeiro, a mutação de um gene durante o desenvolvimento pode ser compensada pela expressão alterada de outros produtos gênicos e, portanto, a função do gene alvejado pode ser

confundida. Em segundo lugar, em um camundongo *knockout* para um gene convencional, é impossível avaliar a importância de um gene em um único tecido ou em apenas um momento durante o desenvolvimento. Em terceiro lugar, um gene marcador de seleção funcional, como o gene *neo*, é permanentemente introduzido no genoma do animal, e essa alteração pode ter resultados imprevisíveis sobre o fenótipo do animal. Um importante refinamento da tecnologia de *knockout* gênico capaz de superar muitas dessas desvantagens é uma abordagem de alvejamento "condicional".

Uma estratégia condicional comumente usada utiliza o sistema de recombinação Cre/*loxP* bacteriófago-derivado. A enzima Cre é uma DNA recombinase que reconhece um motivo constituído por uma sequência de 34 bp chamado ***loxP***, e a enzima medeia a deleção de segmentos gênicos flanqueados por dois sítios *loxP* na mesma orientação. Para gerar camundongos com genes *lox-P*-marcados, são construídos vetores dirigidos com um sítio *lox-P* flanqueando o gene *neo* em uma extremidade e um segundo sítio *loxP* flanqueando as sequências homólogas ao alvo na outra extremidade. Esses vetores são transfectados em CTEs e camundongos carregando o gene-alvo *loxP* flanqueado, porém ainda funcional, são gerados como descrito para camundongos *knockout* convencionais. Uma segunda linhagem de camundongos portadores do transgene *cre* é então cruzada com a linhagem portadora do gene-alvo *lox-P*-flanqueado (*floxed*). Na prole, a expressão da recombinase Cre irá mediar a deleção do gene-alvo. Ambas as sequências, do gene normal e do gene *neo*, serão deletadas. Um fato importante é que a expressão do gene *cre* e, portanto, a deleção do gene-alvo podem ser restritas a certos tecidos ou a momentos específicos pelo uso de construtos de transgene *cre* com diferentes promotores. Exemplificando, a deleção seletiva de um gene apenas em macrófagos e granulócitos pode ser realizada usando um camundongo transgênico para *cre*, em que *cre* seja dirigido por um promotor de lisozima; alternativamente, a perda seletiva de um gene somente em células T reguladoras pode ser realizada usando um promotor *foxp3* dirigindo um transgene *cre*. Outra possibilidade é usar um promotor esteroide-induzível, de modo que a expressão de Cre e a subsequente deleção do gene ocorram somente depois de os camundongos receberem uma dose de dexametasona. Muitas outras variações desta tecnologia foram inventadas para criar mutantes condicionais. A tecnologia Cre/*loxP* também pode ser usada para criar camundongos *knockin*. Nesse caso, os sítios *loxP* são colocados no vetor dirigido para flanquear o gene *neo* e as sequências homólogas, contudo não flanqueiam as sequências gênicas de

substituição (*knockin*). Desse modo, após a deleção *cre*-mediada, o gene exógeno permanece no genoma, no sítio-alvo.

A tecnologia de nocaute gênico tem sido aplicada para criar camundongos "repórter", em que as células que normalmente expressariam uma proteína particular expressarão uma molécula fluorescente e, ao mesmo tempo, a proteína nativa. Para tanto, é feita a substituição do gene nativo por um transgene codificador da proteína repórter fluorescente e da proteína nativa, ambos sob o controle do promotor e do intensificador nativo. Foram desenvolvidos camundongos repórter que permitissem a visualização de células imunes de subpopulações particulares *in vivo*, como camundongos cujas células Th17 produtoras de IL-17 também expressam uma proteína fluorescente. As células podem ser detectadas usando microscopia de fluorescência intravital. As células expressando os genes repórter também podem ser isoladas vivas e submetidas a estudos funcionais *ex vivo*, mesmo que o gene nativo reportado seja um fator de transcrição nuclear cuja expressão, de outro modo, somente fosse detectável por métodos que matam as células. Exemplificando, as células T reguladoras podem ser isoladas por meio da separação por FACS dos linfonodos oriundos de um camundongo repórter que expresse proteína verde fluorescente simultaneamente ao fator de transcrição FoxP3.

Uma nova abordagem para gerar mutações em linhagens celulares, bem como em CTEs, emprega uma modificação de um sistema de defesa bacteriana contra DNA estranho, chamado sistema CRISPR (do inglês, *Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats*) Cas9 (do inglês, *CRISPR-associated nuclease 9*). Na variação de edição gênica desse sistema, um RNA guia é hibridizado com uma sequência de DNA-alvo e permite que a nuclease Cas9 gere uma quebra de fita dupla dirigida. Embora essa quebra possa romper um gene, a cotransfecção de um plasmídeo com uma versão mutante da sequência-alvo permite uma recombinação homóloga eficiente e a criação de uma mutação *knockin* dirigida. Essa é a abordagem mais rápida disponível para a geração de mutações *knockout* ou *knockin* em linhagens celulares ou linhagens germinativas de animais experimentais.

Métodos de Estudo das Respostas de Linfócitos T

Nosso atual conhecimento sobre os eventos celulares na ativação da célula T tem como base diversas técnicas experimentais, nas quais diferentes populações de células T são ativadas por estímulos definidos, e respostas funcionais são medidas. Experimentos *in vitro* forneceram bastante informação sobre as alterações que ocorrem em uma célula T durante a estimulação por um antígeno. Mais recentemente, foram desenvolvidas várias técnicas para estudar a proliferação de células T, expressão de citocinas e redistribuição anatômica na resposta à ativação antigênica *in vivo*. As novas abordagens experimentais têm sido particularmente úteis para o estudo da ativação da célula T *naive* e a localização de células T de memória antígeno-específicas após a finalização de uma resposta imune.

Ativação Policlonal de Células T

Os ativadores policlonais de células T se ligam a muitos ou a todos os complexos receptor de célula T (TCR, do inglês, *T cell receptor*), independentemente da especificidade, e ativam as células T de modos similares aos complexos peptídeo-MHC nas células apresentadoras de antígeno (APCs, do inglês, *antigen-presenting cells*). Os ativadores policlonais são usados principalmente *in vitro*, para ativar células T isoladas do sangue humano ou de tecidos linfoides de animais de experimentação. Os ativadores policlonais também podem ser usados para ativar células T com especificidades antigênicas desconhecidas e podem evocar uma resposta detectável a partir de populações mistas de células T *naive*, ainda que a frequência de células específicas para qualquer antígeno seja baixa demais para elicitar uma resposta detectável. As proteínas vegetais poliméricas que se ligam a carboidratos, chamadas lectinas, como a concanavalina-A e fito-hemaglutinina (PHA, do inglês, *phytohemagglutinin*), constituem um grupo comumente utilizados de ativadores policlonais de célula T. Essas lectinas se ligam especificamente a certos resíduos de açúcar nas glicoproteínas de superfície da célula T, incluindo o TCR e as proteínas CD3, estimulando assim as células T. Anticorpos específicos para epítopos da estrutura invariável no TCR ou proteínas CD3 também atuam como ativadores policlonais de células T. Frequentemente, esses anticorpos precisam ser imobilizados em

superfícies sólidas ou *beads*, ou ainda submetidos à ligação cruzada com anticorpos secundários anti-anticorpo, para indução de respostas de ativação ótimas. Como os ativadores policlonais solúveis não fornecem os sinais coestimuladores normalmente fornecidos pelas APCs, costumam ser muito usados com anticorpos estimuladores dirigidos contra receptores para coestimuladores, como anti-CD28 ou anti-CD2. Os superantígenos, outro tipo de estímulo policlonal, ligam-se e ativam todas as células T que expressam tipos particulares de cadeia β do TCR (Capítulo 16, Fig. 16.3). As células T de qualquer especificidade antigênica também podem ser estimuladas com reagentes farmacológicos, como a combinação do éster de forbol PMA e o ionóforo de cálcio ionomicina, que mimetizam os sinais gerados pelo complexo TCR.

Ativação Antígeno-induzida de Populações Policlonais de Células T

As populações policlonais de células T normais enriquecidas para células T específicas para um antígeno particular podem ser derivadas do sangue e de órgãos linfoides periféricos de indivíduos após a imunização com o antígeno. A imunização serve para expandir o número de células T antígeno-específica, as quais então podem ser reestimuladas *in vitro* pela adição de antígeno e APCs MHC-compatíveis às células T. Essa abordagem pode ser usada para estudar a ativação antígeno-induzida de uma população mista de células T previamente ativadas ("condicionadas") expressando muitos TCRs distintos, contudo o método não permite a análise de respostas de células T *naive*.

Ativação Antígeno-induzida de Populações de Células T com Especificidade Antigênica Única

Populações monoclonais de células T, que expressam TCRs idênticos, têm sido úteis para análises funcionais, bioquímicas e moleculares. A limitação dessas populações monoclonais está no fato de serem mantidas como linhagens de cultura de tecidos de longa duração e, portanto, poderem ter divergido fenotipicamente das células T normais *in vivo*. Um tipo de população de célula T monoclonal usada com frequência em Imunologia experimental é um clone de célula T antígeno-específica. Os clones são derivados isolando células T de indivíduos imunizados, como descrito para as células T policlonais, e, em seguida, estimulando-as repetidas vezes *in vitro* com o antígeno imunizante acrescido de APCs MHC--

compatíveis. Então, as células responsivas ao antígeno único são clonadas em meio semissólido ou em meio líquido, por diluição limitante. Respostas antígeno-específicas podem ser facilmente medidas nessas populações, porque todas as células em uma linhagem celular clonada têm os mesmos receptores e foram selecionadas para crescerem em resposta a um complexo antígeno-MHC conhecido. Clones de ambas subpopulações de linfócitos T, auxiliar e citotóxico, foram estabelecidos com base em camundongos e seres humanos. Outras populações de células T monoclonais usadas no estudo de ativação da célula T incluem hibridomas de célula T antígeno-específicas, produzidos da mesma forma que hibridomas de célula B (Fig. 5.9, Capítulo 5); e linhagens tumorais derivadas de células T foram estabelecidas *in vitro* após a remoção de células T malignas de animais ou seres humanos com linfomas ou leucemias de célula T. Embora algumas linhagens tumor-derivadas expressem complexos TCR funcionais, suas especificidades antigênicas são desconhecidas, e as células geralmente são estimuladas com ativadores policlonais para fins experimentais. A linhagem Jurkat, derivada de uma leucemia de célula T humana exemplifica uma linhagem tumoral que é amplamente usada como modelo para estudar a transdução de sinal na célula T.

Camundongos transgênicos para TCR são uma fonte de células T fenotipicamente normais, homogêneas, com especificidades antigênicas idênticas que são amplamente usadas para análises experimentais *in vitro* e *in vivo*. Se os genes rearranjados das cadeias α e β de um único TCR de especificidade conhecida forem expressos como transgenes em camundongos, a maioria das células T maduras no camundongo expressará esse TCR. Se o cruzamento do transgene de TCR ocorrer em camundongos de fundo deficiente de RAG-1 ou de RAG-2, não haverá nenhuma expressão de gene *TCR* endógeno, e 100% das células T expressarão apenas o TCR transgênico. As células T com TCR transgênico podem ser ativadas *in vitro* ou *in vivo* com um único antígeno peptídico, e podem ser identificadas por anticorpos específicos para o TCR transgênico. Uma das vantagens exclusivas dos camundongos transgênicos para TCR é permitirem o isolamento de números suficientes de células T *naive* de especificidade definida, possibilitando assim estudar as respostas funcionais à primeira exposição ao antígeno. Essa vantagem permitiu aos pesquisadores estudarem as condições *in vitro* em que a ativação antigênica de células T *naive* leva à diferenciação em subpopulações funcionais, como células Th1 e Th2 (Capítulo 9). As células T *naive* de camundongos transgênicos para TCR também podem ser

injetadas em camundongos receptores singênicos, em cujos tecidos linfoides se alojam. O camundongo receptor então é exposto ao antígeno para o qual o TCR transgênico é específico. Com o uso de anticorpos que marcam as células T transgênicas para TCR, é possível seguir sua expansão e diferenciação *in vivo*, bem como isolá-las para análise de respostas *recall* (secundárias) ao antígeno *ex vivo*.

Métodos de Enumeração e Estudo das Respostas Funcionais de Células T

Os ensaios de proliferação para linfócitos T, assim como aqueles de outras células, são conduzidos *in vitro* pela determinação da quantidade de ^{3}H-timidina incorporada ao DNA replicante de células em cultura. A incorporação de timidina fornece uma medida quantitativa da taxa de síntese de DNA, que, em geral, é diretamente proporcional à taxa de divisão celular. A proliferação celular *in vivo* pode ser medida injetando o análogo de timidina chamado bromodesoxiuridina (BrdU) em animais e marcando as células com anticorpos anti-BrdU para identificar e enumerar os núcleos que incorporaram BrdU em seu DNA durante a replicação do DNA.

Os corantes fluorescentes podem ser usados para estudar a proliferação de células T *in vivo*. As células T são marcadas primeiramente com ésteres fluorescentes lipofílicos quimicamente reativos e, então, adotivamente transferidas para animais de experimentação. Os corantes entram nas células, formam ligações covalentes com proteínas citoplasmáticas e, então, não podem sair das células. Um corante desse tipo comumente usado é o 5,6-carboxifluoresceína diacetato de succinimidil éster (CFSE), que pode ser detectado nas células por meio de técnicas-padrão de citometria de fluxo. Toda vez que uma célula T se divide, seu conteúdo de corante cai pela metade e, desse modo, é possível determinar se as células T adotivamente transferidas, presentes nos tecidos linfoides do camundongo receptor, sofreram divisão *in vivo*, bem como estimar o número de duplicações sofridas por cada célula T.

Os **tetrâmeros de peptídeo-MHC** são usados para enumerar as células T que exibem uma única especificidade antigênica isoladas do sangue ou dos tecidos linfoides de animais de experimentação ou seres humanos. Esses tetrâmeros contêm quatro complexos peptídeo-MHC que a célula T normalmente reconheceria na superfície das APCs. O tetrâmero é formado produzindo uma molécula de MHC classe I a qual é acoplada uma pequena molécula chamada biotina, por meio da aplicação da tecnologia

de DNA recombinante. A biotina se liga com alta afinidade a uma proteína chamada avidina e cada molécula de avidina liga quatro moléculas de biotina. Portanto, a avidina forma um substrato para a montagem de quatro proteínas de MHC biotina-conjugado. As moléculas de MHC podem ser carregadas com um peptídeo de interesse e, assim, estabilizadas. A molécula de avidina é marcada com um fluorocromo, como FITC. Esse tetrâmero se liga a células T específicas para o complexo peptídeo-MHC, com avidez alta o suficiente para marcar as células, mesmo que estejam em suspensão. Esse método é a única abordagem viável para identificação de células T antígeno-específicas em seres humanos. Exemplificando, é possível identificar e enumerar células T HLA-A2-restritas circulantes específicas para um peptídeo de HIV marcando células sanguíneas contendo um tetrâmero de moléculas de HLA-A2 carregado com o peptídeo. A mesma técnica está sendo usada para enumerar e isolar células T específicas para autoantígenos em indivíduos normais e em pacientes com doenças autoimunes. Os tetrâmeros de peptídeo-MHC que se ligam a um TCR transgênico particular também podem ser usados para quantificar as células T transgênicas em diferentes tecidos após a transferência adotiva e estimulação antigênica. A técnica é hoje amplamente utilizada com moléculas de MHC classe I. Nas moléculas de classe I, apenas um polipeptídeo é polimórfico e moléculas estáveis podem ser produzidas *in vitro*. Isso é mais difícil para moléculas de classe II, porque ambas as cadeias são polimórficas e requeridas para a montagem adequada, contudo tetrâmeros de classe II-peptídeo também estão sendo produzidos.

Os **ensaios de secreção de citocina** podem ser usados para quantificar células T efetoras secretoras de citocina junto aos tecidos linfoides. Os métodos mais comumente usados são a marcação citoplasmática de citocinas com análise de células marcadas por citometria de fluxo, e os ensaios imunossorventes de célula única ligados a enzimas (ELISpot, do inglês, *single-cell enzyme-linked immunosorbent assays*). Nesses tipos de estudos, a ativação antígeno-induzida e a diferenciação de células T ocorrem *in vivo*. Em seguida, as células T são isoladas, reestimuladas com o antígeno ou com ativadores policlonais, e testadas para expressão de citocina *in vitro*. A marcação citoplasmática de citocinas requer permeabilização das células, de modo a permitir que anticorpos conjugados com fluorocromo específicos para uma citocina particular possam entrar na célula. As células marcadas, então, são analisadas por citometria de fluxo. A expressão de citocinas por células T específicas para um antígeno particular pode ser determinada por meio da marcação

adicional de células T com tetrâmeros peptídeo-MHC ou, no caso das células T transgênicas para TCR, com anticorpos específicos para o TCR transgênico. Usando uma combinação de CFSE e anticorpos anticitocina, é possível examinar a relação existente entre divisão celular e expressão de citocina. No ensaio ELISpot, células T recém-isoladas do sangue ou de tecidos linfoides são cultivadas em poços de placa de cultura de plástico revestidos com anticorpo específico para uma citocina particular. As citocinas são secretadas por células individuais, então se ligam a anticorpos fixos em pontos (*spots*) discretos correspondentes à localização de células T individuais. Os *spots* são visualizados por meio da adição de um anticorpo secundário anti-Ig ligado à enzima, como no Elisa padrão (descrito anteriormente), e o número de *spots* é contado para determinar o número de células T secretoras de citocina.

Métodos de Estudo das Respostas de Linfócitos B

Ativação de Populações de Células B Policlonais

Do ponto de vista técnico, é difícil estudar os efeitos dos antígenos sobre as células B. Essa dificuldade existe porque, conforme previsto pela hipótese da seleção clonal, pouquíssimos linfócitos em um indivíduo são específicos para um antígeno qualquer. Uma abordagem para superar esse problema consiste em usar anticorpos anti-Ig como análogos de antígenos, considerando que o anticorpo anti-Ig se ligará às regiões constantes (C) das moléculas de Ig de membrana em todas as células B e produzirá os mesmos efeitos biológicos produzidos por um antígeno que se liga às regiões hipervariáveis das moléculas de Ig de membrana existentes apenas em células B antígeno-específicas. Até o ponto em que comparações precisas são viáveis, esta consideração parece de modo geral correta, indicando que o anticorpo anti-Ig é um modelo válido para antígenos. Assim, o anticorpo anti-Ig é usado com frequência como ativador policlonal de linfócitos B, similarmente ao uso dos anticorpos anti-CD3 como ativadores policlonais de linfócitos T, já discutidos.

Ativação Antígeno-induzida de Populações de Células B com Especificidade Antigênica Única

Para examinar os efeitos da ligação antigênica às células B, pesquisadores tentaram isolar células B antígeno-específicas de populações complexas de linfócitos normais ou produzir linhagens de células B clonadas com especificidades antigênicas definidas. Todavia, esses esforços alcançaram pouco sucesso. Por outro lado, foram desenvolvidos camundongos transgênicos em que quase todas as células B expressam uma Ig transgênica de especificidade conhecida, de modo que a maioria das células B presentes nesses camundongos respondem ao mesmo antígeno. Uma abordagem algo mais sofisticada foi a geração de camundongos *knockin* para o receptor antigênico, em que os genes das cadeias H e L de Ig rearranjados foram homologamente recombinados em seus *loci* endógenos. Esses animais *knockin* se mostraram particularmente úteis na avaliação da edição de receptor.

Ensaios para Medir a Proliferação das Células B e a Produção de Anticorpos

Uma parte considerável do nosso conhecimento sobre a ativação da célula B tem como base experimentos *in vitro*, nos quais diferentes estímulos são usados para ativar células B e é possível medir com precisão a proliferação e diferenciação dessas células. Os mesmos ensaios podem ser feitos com células B recuperadas de camundongos expostos a diferentes antígenos ou com células B homogêneas expressando receptores antigênicos codificados por transgene.

A proliferação das células B é medida usando marcação com CFSE ou incorporação de ^{3}H-timidina *in vitro* e de BrdU *in vivo*, como descrito anteriormente para a proliferação da célula T.

A produção de anticorpo é medida de dois modos diferentes: com ensaios para secreção cumulativa de Ig, que mede a quantidade de Ig acumulada no sobrenadante de linfócitos em cultura ou no soro de um indivíduo imunizado; e os ensaios com célula isolada, que determinam o número de células em uma população imune que secretam Ig de uma especificidade ou isotipo particular. A técnica mais precisa, quantitativa e amplamente usada para medir a quantidade total de Ig no sobrenadante de uma cultura ou em uma amostra de soro é o Elisa. Usando antígenos ligados a suportes sólidos, é possível usar o Elisa para determinar a quantidade de anticorpos presentes em uma amostra que são específicos para um antígeno particular. Em adição, a disponibilidade de anticorpos anti-Ig que detectam Igs de diferentes classes de cadeia pesada ou leve permite medir as quantidades de diferentes isotipos em uma amostra. Outras técnicas usadas para determinar os níveis de anticorpo são a hemaglutinação para anticorpos antieritrócitos, e a lise dependente de complemento, para anticorpos específicos para tipos celulares conhecidos. Ambos os ensaios têm como base a demonstração de que, se a quantidade de antígeno (i. e., células) for constante, a concentração de anticorpo determina a quantidade de anticorpo ligado às células. Isso é refletido no grau de aglutinação celular ou na subsequente ligação de complemento e lise celular. Os resultados desses ensaios geralmente são expressos como títulos dos anticorpos, os quais consistem na diluição da amostra que produz metade dos efeitos máximos, ou na diluição em que o ponto final do ensaio é alcançado.

Um ensaio de célula isolada para secreção de anticorpo é o ensaio ELISpot. Nesse método, o antígeno é ligado ao fundo de um poço, as células secretoras de anticorpo são adicionadas, e os anticorpos secretados

e ligados ao antígeno são então detectados por um anticorpo anti-Ig ligado a uma enzima, como no Elisa, em um meio semissólido. Cada *spot* representa a localização de uma célula secretora de anticorpo. Os ensaios de célula isolada fornecem uma medida dos números de células secretoras de Ig, mas não podem quantificar com precisão a Ig secretada por cada célula ou pela população celular total. As técnicas de ELISA e ELISpot podem ser adaptadas para avaliar a afinidade dos anticorpos, usando antígenos com diferentes números de componentes hapteno. Nesse sentido, a medida da afinidade pode ser avaliada testando soro ou células B amostradas em momentos distintos durante uma resposta imune.

Aplicações dos Imunoensaios no Diagnóstico Clínico

Muitas das técnicas discutidas anteriormente são usadas em laboratórios clínicos, para determinar o estado do sistema imune dos pacientes. Aqui, resumiremos algumas das abordagens laboratoriais mais comuns que costumam ser usadas para o diagnóstico inicial de anormalidades imunológicas. Em muitos casos, as anormalidades encontradas com essas abordagens são acompanhadas por testes altamente especializados, incluindo a análise genética molecular.

Citometria de Fluxo para Determinar os Números de Subpopulações de Células Imunes Circulantes

Essa abordagem é usada de forma rotineira para determinar os números totais de células B, células T, células NK e subpopulações de células T ($CD4^+$ e $CD8^+$) na circulação. Entre as abordagens de acompanhamento, estão a busca em populações de células T *naive* e subpopulações de células T de memória ($CD45RA^+/RO^+$), células T γδ, células B de memória que realizaram troca de isotipo ($CD27^+IgM^-IgD^-$) e até subpopulações de células T auxiliares (Th1, Th2, Th17, Treg), dependendo do contexto.

Ensaios para Imunidade Inata

- O **ensaio da explosão oxidativa do neutrófilo** comumente é realizado usando análise de citometria de fluxo com dihidrorrodamina (DHR) e pode servir para a detecção de doença granulomatosa crônica manifesta e também dos portadores com herança ligada ao X da doença.
- Os **ensaios de citotoxicidade da célula NK** avaliam o *killing* pela célula NK *ex vivo* de uma população celular-alvo (p. ex.: células sem MHC). Um valor baixo sugere disfunção de célula NK e é útil na avaliação de pacientes com infecções recorrentes (primariamente, virais), bem como em casos de pacientes com suspeita de causa primária de linfo-histiocitose hemofagocítica (HLH, do inglês, *hemophagocytic lymphohistiocytosis*).

Ensaios para Imunidade Humoral

A **eletroforese de proteínas séricas** pode revelar diminuição de γ-globulinas na imunodeficiência, bem como picos de Ig monoclonal associados com expansões clonais maligna e pré-maligna de plasmócitos.

Os **níveis séricos de diferentes classes de anticorpo**, incluindo IgG, IgA, IgM e IgE, além de subclasses de IgG, geralmente são determinados por nefelometria automatizada, que envolve misturar uma diluição do soro de um paciente com anticorpos específicos para diferentes classes de cadeia pesada de Ig, formando pequenos imunocomplexos que são detectados e quantificados por meio da medida da dispersão da luz. A avaliação dos níveis de subclasses de IgG no soro é mais útil em casos de pacientes com níveis totais de IgG baixos limítrofes (≤400 mg/dL na população adulta).

Os **níveis e a função do complemento** são quantificados em diversos contextos clínicos, incluindo infecções recorrentes, angioedema recorrente e/ou doença autoimune. No contexto de infecções recorrentes (particularmente por organismos encapsulados como *Neisseria*), recomenda-se determinar os níveis de CH50 como teste de triagem inicial, seguido então de análises mais detalhadas da via, desde que no contexto de um CH50 baixo/nulo. O CH50 é um teste de triagem para deficiência das vias clássica ou terminal, e é determinado pela medida da habilidade do soro de um paciente de causar hemólise em eritrócitos de carneiro pré-cobertos com anticorpos fixadores de complemento. A diluição do soro que resulta em 50% de hemólise de eritrócitos é o CH50. A análise de proteínas do complemento individuais é realizada por nefelometria ou variações de Elisas. No contexto de angioedema recidivante, a determinação dos níveis de C4 é recomendada com frequência para teste de triagem inicial, seguida da determinação dos níveis e da função do inibidor C1 no contexto de níveis baixos de C4 e/ou de alto nível de suspeita de deficiência subjacente de C1. No contexto de doença autoimune, níveis baixos de C3 e/ou C4 podem ser medidas úteis da formação em curso de imunocomplexos.

A **triagem de anticorpos** para uma gama de especificidades pode ser realizada dependendo do contexto clínico, usando várias técnicas

em que o soro de um paciente é testado quanto à presença de Ig que se ligue a antígenos purificados ou a células.

As **respostas a vacinas** são medidas de forma rotineira, para avaliar a função imune humoral. As respostas são determinadas medindo os níveis séricos de IgG específica para ambos antígenos, dependentes de célula T (proteínas ou glicoproteínas; p. ex.: vacinação contra toxoide tetânico, toxoide diftérico, bem como antígenos e *Haemophilus influenza* tipo B) e independentes de célula T (p. ex.: polissacarídeos; p. ex.: Pneumovax). Os títulos são mais comumente medidos decorridos cerca de 6 meses da vacinação, sendo que títulos baixos podem justificar avaliação adicional para imunodeficiência subjacente de célula B.

Ensaios para Imunidade Celular

Os **círculos de excisão do receptor de célula T (TRECs, do inglês, *T cell receptor excision circles*)**, que são formados pela recombinação V-D-J durante a maturação da célula T, são medidos em um ensaio de triagem sanguínea de recém-nascidos que atualmente é obrigatório na maioria dos estados dos Estados Unidos. Os níveis de TREC são usados para avaliar o débito recente de células T do timo, sendo que níveis baixos justificam avaliação adicional para imunodeficiência combinada grave (SCID, do inglês, *severe combined immunodeficiency*).

Os **ensaios de proliferação de célula T** são realizados para avaliar a função da célula T, com a avaliação sendo feita pela estimulação das células *ex vivo* com mitógenos como mitógeno *pokeeweed* (PWM) e PHA, antígenos específicos (*Candida* e toxoide tetânico são comumente usados), ou em seguida à ligação por anticorpos contra CD3 e CD28. Uma proliferação celular robusta a esses estímulos sugere uma função intacta da célula T.

Índice

Os números de página seguidos de "*f*" indicam figuras, e seguidos de "*t*" indicam tabelas.

A

Abertura e processamento final do "grampo", na recombinação V(D)J, 190, 190*f*

Adjuvantes

antígenos administrados com, 370

na ativação de célula T, 120, 213

na estimulação da imunidade adaptativa, 93

Adressina de linfonodo periférico (PNAd), 48

Adressina em linfonodo secundário (PNAd), 42

Afinidade de anticorpo (K_d), 111–112

Agamaglobulinemia de Bruton, 468–469

Agamaglobulinemia ligada ao X (ALX), 468–469, 469*t*

a partir de mutações no gene *BTK*, 195

Agamaglobulinemias, ligada ao X, 468–469, 469*t*

Agentes anti-inflamatórios

para doenças imunológicas, 428

para rejeição de aloenxerto, 389–390

AIDS, *Ver* Síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS)

Alarminas, 60

Alça R, de DNA, 264–265

Alemtuzumabe, 413*t*
Alérgeno(s), 437
  natureza de, 439
Alergia(s), 437–457
  alimento, 314–315
    patogênese e terapia de, 454
  fatores ambientais em, 451–452
Alergias alimentares, 314–315
  patogênese e terapia de, 454
Aloanticorpos, produção e função de, 381
Aloantígeno(s)
  natureza de, 374–377
  respostas da célula T a, coestimulação em, 380–381
  sensibilização a, 379, 380*f*
Aloenxerto(s)
  imunogenicidade de, métodos para reduzir, 385–387
  respostas imunes adaptativas a, 374–381
Alótipos, 105–106
Alvo de anticorpo antiproliferativo-1 (TAPA-1), 289–290
Amiloide sérico P (SAP), 80–81
Aminas vasoativas
  derivadas de mastócitos, 446*f*, 447
  em mastócitos, 79
Aminas vasoativas, derivadas de mastócito, 446*f*, 447
Amostragem de antígeno, por células dendríticas intestinais, 301–302, 311*f*

Amplificação, na diferenciação da subpopulação de célula T, 230
Anafilatoxinas, 294
Anafilaxia, 439
  sistêmica, patogênese e terapia de, 452
Anafilaxia sistêmica, patogênese e terapia de, 452
Anel de Waldeyer, 306
Anemia
  hemolítica autoimune, 419–420, 421*t*
  perniciosa, 421, 421*t*
Anemia hemolítica autoimune, 419–420, 421*t*
Anemia hemolítica, autoimune, 421*t*
Anemia perniciosa, 421*t*
Anergia
  célula B, 339–340
  célula T, 329–330, 331*f*–332*f*, 426
Angioedema, hereditário, 291
Angioedema hereditário, 291
Anormalidades imunológicas, levando à autoimunidade, 342
Antagonista do receptor de IL-1 (IL-1RA), 93
Antagonista do receptor de interleucina-1 (IL-1RA), 519
Antagonistas de IL-1, na gota, 70
Anti-CD20
  para esclerose múltipla, 433
  para lúpus eritematoso sistêmico, 428–429
Anti-CD52, para rejeição a enxerto, 389
Anticorpo antialotípico, 105–106

Anticorpo anti-idiotípico, 105–106
Anticorpo humanizado, 106
Anticorpo humano anticamundongo (HAMA), 106
Anticorpo(s), 97–116
afinidade de, 111–112
antialotípico, 105–106
anti-CD20, 428–429
anti-idiotípico, 105–106
anti-linfócito, 388–389
antimurino, 106
contra helminto, 281
contra microrganismos e toxinas microbianas, 277, 278*f*
deficiências em, imunodeficiências congênitas a partir de, 468–471, 469*t*
definição de, 97
estrutura de, 98–106, 99*f*
características gerais de, 98–101
funções de, 275, 276*f*
funções efetoras de, 276–277
humanizado, 106
idiótipos de, 105–106
imunidade humoral mediada por, 275
isotipos de, 103–104, 104*t*, 115, 276, 277*t*
ligação de antígeno por, 103*f*
meia-vida de, 108*f*–110*f*, 109–110
métodos laboratoriais usando, 531–538

citometria de fluxo como, 534–537, 536*f*
ensaios com *beads* para citocina como, 537
identificação e purificação de proteínas como, 533
imunofluorescência e imuno-histoquímica como, 537–538
imunoprecipitação e cromatografia por imunoafinidade, 533, 534*f*
marcação e detecção de, em células e tecidos como, 534
purificação de células como, 537
quantificação das interações antígeno-anticorpo como, 538, 538*f*
quantificação de, por imunoensaios, 531–533, 532*f*
Western blotting como, 533, 535*f*
moléculas de
flexibilidade de, 104, 105*f*, 112
relações estrutura-função de, 113–115
relacionado a funções efetoras, 114–115
relacionado ao reconhecimento de antígeno, 113–114
síntese, montagem e expressão de, 107–110
monoclonal, 13–14, 106, 107*f*
na imunidade adaptativa a vírus, 363
na resposta imune adaptativa, 5–8
na resposta imune a tumores, 404
natural, 272
policlonal, 98
produção de, 251–274
produtor de doença, a partir de resposta imune contra bactéria extracelular, 356
regiões constantes de, características estruturais de, 103–106

regiões variáveis de, características estruturais de, 101–103, 102*f*
Anticorpos doador-específicos, 381
Anticorpos monoclonais, 13–14, 106
aplicação de, 106
geração de, 107*f*
na imunoterapia para tumores, 413
no uso clínico, 108*t*
para doenças imunológicas, 428–429
para rejeição de enxerto, 389
Anticorpos naturais, 272
Anticorpos policlonais, 98
Antígeno ambiental, reações contra, causando doenças de hipersensibilidade, 418
Antígeno de Lewis, em transfusão sanguínea, 393
Antígeno II, 123
Antígeno leucocitário humano G (HLA-G), 321
em células trofoblásticas, 321
Antígeno Rhesus (Rh), em transfusão sanguínea, 393
Antígeno(s), 2–3, 97–116
alteração de, em vírus, 364
ambiental, reações contra, causador de doenças de hipersensibilidade, 418
antígenos biológicos em, 110–111, 111*f*
bases estruturais e químicas de, 111–113, 112*f*
captura de, 117, 119–123, 254–255, 254*f*
e apresentação de, por células dendríticas, 121–123, 122*f*
e transporte de, por células dendríticas, 122

definição de, 97
distribuição de, para células B, 254–255, 254*f*
entrada de, vias de, 121*f*
funções efetoras e, 114–115
grupos sanguíneos ABO, em transfusão sanguínea, 391–393, 392*f*
leucócito humano, 124
locus, 124
Lewis, 393
não proteico, apresentação de, para subpopulações de células T, 141–142
natureza de, na ativação de linfócitos T $CD8^+$, 244–245
polivalente, 112–113, 112*f*
proteína, *Ver* Antígenos proteicos
receptor de célula B para, 165, 166*f*, *Ver também* Receptor de célula B (BCR)
receptor de célula T para, estrutura de, 151–153, 152*f*–155*f*
reconhecido por células T, propriedades de, 118–119, 118*f*, 118*t*
Rhesus (Rh), 393
T-independente, respostas de anticorpo a, 271–272, 271*t*
tolerogênico, 325
transporte através de linfonodos, 35
tumor, 399–402
antígenos cancerígenos/testiculares, 400, 401*f*
como produto de genes mutantes, 399
de vírus co-oncogênicos, 399
neuroantígenos, 399, 400*f*
perda da expressão de, 407

proteínas celulares superexpressas, 399–401, 401*f*
vacinação com, 409–410, 410*f*
Antígenos biológicos, características de, 110–111
Antígenos de câncer/testículo, 400, 401*f*
Antígenos de glicoproteína, alterados, 402
Antígenos de histocompatibilidade menores, em transplante de órgão, 376–377
Antígenos de superfície, variação de
imunoevasão e, 356–357
parasitas e, 368
Antígenos do grupo sanguíneo ABO, em transfusão sanguínea, 391–393, 392*f*
Antígenos glicolipídicos, alterados, 402
Antígenos leucocitários humanos (HLA), 124
compatibilidade, em transplante de órgão, 386, 386*f*
doenças autoimunes e, 343–346, 343*t*, 345*t*
Antígenos oncofetais, 402
Antígenos polivalentes, 112–113, 112*f*
Antígenos proteicos
apresentação de, e vírus, 364–365, 365*f*
degradação de, em proteossomos, 134–135
estranho, tolerância induzida por, 340
imunidade adaptativa e, 355–356
imunogenicidade de, 140–141, 141*f*
marcação para lisossomos, 136–137
processamento de, 133–141, *Ver também* Processamento de antígeno

respostas de anticorpo dependentes de célula T auxiliar a, 256–271
Antígenos tecido-restritos (TRAs), 328, 329*f*
Anti-Her2/Neu, 413
Antimetabólitos, para rejeição de enxerto, 388
Antissoro, 97–98
Antitoxinas, 7–8
AP-1, na expressão genética na célula T, 163–164
APCs profissionais, 119–120
APCs, *Ver* Células apresentadoras de antígeno (APCs)
Apoptose, 70
deleção de célula T por, 336–338, 337*f*
na tolerância periférica, 327
Apresentação antigênica
associada ao MHC, significância fisiológica de, 139–141, 140*f*–141*f*
para linfócitos T, 117–144
por células B, 257–259, 258*f*
vírus inibidores, mecanismos de, 364–365, 365*f*
Apresentação cruzada, 139, 139*f*, 244–245
APRIL, 519
Armadilhas extracelulares de neutrófilos (NETs), 88
Artemis, na abertura do grampo, 190, 190*f*
Artrite reumatoide, 425*t*, 430–432
novas terapias para, 432
patogênese de, 431–432, 432*f*
ASC, 70
Asma

brônquica, patogênese e terapia de, 452–453, 453*f*–454*f*
exacerbações de, infecções respiratórias e, 452
genes associados com, 451*t*
Asma brônquica, patogênese e terapia de, 452–453, 453*f*–454*f*
Aspergillus fumigatus, 81, 353*t*–354*t*
Ataxia-telangiectasia, 473–474
ATG16L1, doenças autoimunes e, 344, 345*t*
Ativação alternativa de macrófago, 17
por células Th2, 236–237, 237*f*
Ativação clássica de macrófagos, 17, 232, 232*f*
por células Th1, 233–234, 233*f*
Ativação da célula B, 251–274
complemento na, 168*f*
dependente de célula T, defeitos em, 471
extrafolicular, 260
induzida por antígeno, 254–256
na produção de IgE, 440
por antígenos e outros sinais, 255–256, 255*f*, 256*t*
regulação de, por FcγRIIB, 272–273, 272*f*
T-dependente, interação CD40L:CD40 em, 259–260
Ativação da célula B dependente da célula T, defeitos em, 471
Ativação da célula B extrafolicular, 260
Ativação da célula T
alterações metabólicas durante, 165, 166*f*
ativação de tirosinas quinases e lipídeo quinase durante, 156, 157*f*
correceptores CD4 e CD8 em, 154–156, 155*f*–156*f*

defeitos em, 472*t*
defeituosa, imunodeficiência combinada grave causada por, 470*f*
eventos iniciais na fosforilação da tirosina na, 157*f*
pares ligante-receptor envolvidos na, 155*f*
policlonal, por superantígenos bacterianos, 356, 357*f*
via da Ras-MAP quinase na, 160*f*
Ativação da célula T $CD8^+$
células T auxiliares em, papel de, 245, 245*f*
citocinas em, papel de, 245–246
natureza do antígeno e células apresentadoras de antígeno para, 244–245
Ativação de Akt, na ativação da célula T, 156, 158*f*
Ativação de PKC-β, 168
Ativação do complemento
etapas tardias de, 288, 289*t*, 290*f*
na imunidade inata a bactérias extracelulares, 354–355
produtos de, 282
regulação de, 290–293, 292*t*
via alternativa de, 282–285, 284*f*, 285*t*
via clássica de, 285–287, 286*t*, 287*f*–288*f*
via da lectina de, 287–288, 289*t*
vias de, 282–288, 283*f*
Ativação *bystander*, 46–347
Ativadores policlonais, 542
Atopia, 437, *Ver também* Alergia(s)
genes associados com, 451*t*

Auto
dano, reconhecimento de, pelo sistema imune inato, 59–62
falta, reconhecimento de, 78
Autoanticorpos, doenças causadas por, 421
Autoantígeno(s)
exibição anormal de, na autoimunidade, 342
tolerância a
central, 326–327
periférica, 327
tolerogenicidade de, 338, 338*t*
Autofagia, 67, 137
Autoimunidade, 325–350
alelos do MHC associados com, 343–344, 343*t*
alterações anatômicas em, 348
anormalidades hereditárias monogênicas causadoras, 346, 346*t*
anormalidades imunológicas que levam a, 342
bases genéticas de, 342–346, 343*t*, 345*t*–346*t*
causadora de hipersensibilidade, 417
células T reguladoras em, 336
fatores que afetam, 341
infecções em, 346–348, 347*f*
influências hormonais em, 348
mecanismos de, 340–348, 341*f*
polimorfismos em genes não HLA associados com, 344–346, 345*t*
Autotolerância, 5, 204–205, 325
células T reguladoras em, 336

Avidez, de interação antígeno-anticorpo, 112, 112*f*

B

Baço
anatomia e funções de, 35–36
imunidade adaptativa e, 355–356
migração de célula T *naive* para, 52
morfologia de, 36*f*
remoção de, 474*t*

Bactérias
extracelular
imunidade a, 354–357
adaptativa, 355–356, 355*f*
inata, 354–355
imunoevasão por, 356–357, 357*t*, 358*f*
mecanismos de patogenicidade de, 353*t*–354*t*
respostas imunes a, efeitos lesivos de, 356, 357*f*
infecções a partir de
erradicação de, reações imunes mediadas por mastócito em, 455
respiratória, asma ou exacerbações e, 452
intercelular
imunidade a, 357–360
imunidade adaptativa a, 358–360, 359*f*–360*f*
imunidade inata a, 357–358, 359*f*
imunoevasão por, 360
mecanismos de patogenicidade de, 353*t*–354*t*

Bactérias extracelulares, imunidade a, 353*t*–354*t*, 354–357, *Ver também* Bactéria, extracelular

Bactérias intracelulares, imunidade a, 357–360, *Ver também* Bactéria, intracelular

BAFF, 198, 519

antagonistas de, 429*t*

para lúpus eritematoso sistêmico, 430

Bainhas linfoides periarteriolares, 35

Barreira hematocefálica, 320–321

imunoprivilégio no olho e, 320–322

Barreiras epiteliais

na imunidade, 299–324, *Ver também* Imunidade regional

no sistema imune inato, 72–73, 73*f*

Barreiras mucosas e, defesa do hospedeiro e, 236

Bases genéticas, da autoimunidade, 342–346, 343*t*, 345*t*–346*t*

Basófilo(s), 14–15

contagens normais de, 14*t*

em respostas inatas e imunoadaptativas, 18

ligação de IgE ao, 442–443

mediadores produzidos por, 442*t*

morfologia de, 14*f*, 441*f*

propriedades de, 440–448, 441*t*

Bcl-6 (gene 6 do linfoma de célula B), 260–261

na célula B germinativa, 270

BCMA, 269

BCR, *Ver* Receptor de célula B (BCR)

Belatacepte, 389

Bevacizumabe, 413*t*
Blimp-1, 270–271
Blinatumomabe, 413*t*
Bloqueio de coestimulador
  para induzir tolerância doador-específica, 390
  para rejeição de aloenxerto, 389
  terapêutico, 215, 216*f*
Bloqueio de ponto de controle, 408, 408*f*
BLyS (estimulador de linfócito B), 198
Bolsas branquiais, 28–30
Brentuximabe vedotina, 413*t*
Burst respiratório, 88

C

C3b, clivagem fator I-mediada de, 293, 293*f*
C3 convertase, 80
  inibição da formação de, 291–292, 292*f*
  na ativação do complemento, 282
C3d, na ativação da célula B, 255
C3 *tickover*, 282–284
C5 convertase, 80
  inibição da formação de, 291–292
  na ativação do complemento, 282
  nas etapas tardias da ativação do complemento, 288, 289*t*, 290*f*
Cadeia de junção (J), em moléculas multiméricas de IgM e IgA, 105
Cadeia invariante, 136

Cadeia(s) leve(s)
de moléculas anticorpo, 99–100, 99*f*
substituto, 108–109
Cadeias pesadas, em moléculas de anticorpo, 99–100, 99*f*
formas de membrana e secretada de, 105, 105*f*
regiões C de, 100
distribuição tecidual de moléculas de anticorpo e, 115
Cadeia α, em receptores Fcγ, 278
Calcineurina, 161–163
Cálcio, nas vias sinalizadoras em linfócitos T, 161
Calmodulina, 161
Camundongos *knockout*, criação de, 539–541, 539*f*–540*f*
Camundongos repórter, 541–542
Camundongos transgênicos
e marcação de genes, 538–542, 539*f*–540*f*
TCR, 543
Camundongos transgênicos para TCR, 543
Câncer, 397
irradiação e quimioterapia para, 474*t*
metástases, 474*t*
Candida albicans, 353*t*–354*t*
5,6-carboxifluoresceína diacetato de succinimidil éster (CFSE), 543
Carreador, 110
Caspase-1, 70
Caspases
na apoptose, 70

na morte celular, 336
Catelicidina, em barreiras epiteliais, 73
β-catenina, níveis de, 148
Catepsina B, 249
CCR7, 48–49
em células T *naive*, 34
CD102 (ICAM-2), 523
CD103 (subunidade α_E-integrina), 523
CD10, 523
CD106 (molécula de adesão celular vascular 1), 523
CD11a (cadeia α de LFA-1), 523
CD11b (Mac-1; CR3), 523
CD11c (p150,95; cadeia $\alpha\alpha$ de CR4), 523
CD134 (OX40, TNFRSF4), 523
CD14, 523
receptores do tipo *Toll* e, 64
CD150 (molécula sinalizadora da ativação de linfócito), 523
CD152 (proteína associada ao linfócito T citotóxico-4), 169–170, 523
CD154 (CD40-ligante), 523
CD158 (receptor do tipo Ig *killer)*, 523
CD159a (NKG2A), 523
CD159c (NKG2C), 523
CD162 (glicoproteína ligante de P-selectina 1), 523
CD16a (FcγγRIIIA), 523
CD16b (FcγγRIIIB), 523
CD16 (FcγRIIIA), 77–78

CD178 (Fas-ligante), 523
CD18, 523
CD19, 289–290, 523
CD1a-d, 523
CD1e, 523
CD20, 523
  para lúpus eritematoso sistêmico, 430
CD206 (receptor de manose), 523
CD21 (CR2; receptor de C3d), 523
CD22, 273, 523
CD223 (gene de ativação de linfócito 3), 523
CD23 (FcεRIIB), 523
CD244 (2B4), 523
CD247, 523
CD252 (OX40-ligante), 523
CD25 (cadeia $\alpha\alpha$ do receptor de IL-2), 334, 429*t*, 523
  doenças autoimunes e, 344, 345*t*
  na ativação da célula T, 216
CD267 (TACI), 523
CD268 (receptor de BAFF), 523
CD269 (antígeno de maturação da célula B), 523
CD273 (PD-L2), 523
CD274 (PD-L1), 523
CD275 (ICOS-ligante), 523
CD278 (coestimulador induzível), 523
CD279 (PD1), 523

CD27, como marcador de célula T de memória, 222
CD28, 330–331, 331*f*, 523
de coestimuladores, 212–215, 213*f*–214*f*
de receptores coestimuladores, 164–165
CD29, 523
CD2 (LFA-2), 523
CD30 (TNFRSF8), 523
CD314 (NKG2D), 523
CD31 (molécula de adesão plaqueta/célula endotelial-1), 523
CD32 (FcγRII), 523
CD34, 48, 523
CD357 (GITR, TNFRSF18), 523
CD35 (receptor de complemento tipo 1, CR1), 523
CD363 (receptor de esfingosina-1-fosfato 1 de tipo 1), 523
CD365 (receptor celular do vírus da hepatite A 1), 523
CD36, 72, 523
CD369 (família do domínio de lectina tipo C 7), 523
CD3γγ, 523
CD3δ, 523
CD3ε, 523
CD40, 523
CD40L e, interação de, na ativação da célula B T-dependente, 259–260
na troca de isotipo, 264
CD40-ligante (CD40L, CD154)
CD40 e, interação de, na ativação da célula B T-dependente, 259–260

na ativação da célula T, 120, 215–216, 216*f*
CD43, 523
CD44, 226, 523
CD4, 523
CD45 (antígeno leucocitário comum [LCA]), 26–27, 523
CD45R, 523
CD45RA, 26–27
em células T *naive*, 222
CD45RO, 26–27
em células T de memória, 222
CD46 (proteína cofator de membrana), 523
CD47, 523
CD49d, 523
CD54 (ICAM-1), 523
CD5, 523
CD55 (fator acelerador de decaimento), 523
CD58 (antígeno associado à função leucocitária 3), 523
CD59, 292*t*, 293, 523
CD62E (E-selectina), 523
CD62L (L-selectina), 523
CD62P (P-selectina), 523
CD64 (FcγRI), 523
CD66e (antígeno carcinoembrionário), 523
CD69, 523
na ativação da célula T, 216
CD74 (cadeia invariante do MHC de classe II), 523

CD79a (Ig$\alpha\alpha$), 523
CD79b (Igβ), 523
CD80 (B7-1), 523
CD81 (alvo do antígeno antiproliferativo 1), 289–290, 523
CD86 (B7-2), 523
CD88 (receptor de C5a), 523
CD89 (receptor Fcα *Facer)*, 523
CD8α, 523
CD8$\beta\beta$, 523
CD90 (Thy-1), 523
CD94, 523
CD95 (Fas), 523
Célula-alvo, 243
  killing de, por linfócitos T citotóxicos, 247–249, 249*f*
Célula B *naive*, migração de, 53
Células apresentadoras de antígeno (APCs), 8–9, 117, 402–403
  células B como, 120*t*, *Ver também* Célula(s) B
  células dendríticas como, 121–123, 122*f*, *Ver também* Célula(s) dendrítica(s)
  células endoteliais vasculares como, 120*t*, 123
  funções de, 119–123, 119*f*, 120*t*
  macrófagos como, 120*t*, 123, *Ver também* Macrófago(s)
  na ativação da célula T, 212
  natureza de, na ativação de linfócitos T $CD8^+$, 244–245
  profissional, 119–120
  propriedades de, 119–120, 119*f*, 120*t*

Célula(s) B
alorreativa, ativação de, 381
alta afinidade, seleção de, 266–269, 267*f*
apresentação de antígeno por, 257–259, 258*f*
ativação, imunodeficiência causada por defeitos em, 470*f*
ativação inicial e migração de auxiliar, 258*f*
B1, 22*t*
captura e distribuição de antígeno em, 254–255, 254*f*
como células apresentadoras de antígeno, 123
desenvolvimento de, 192–199
estágios de, 193–198, 193*f*–194*f*
estágios de pró-B e pré-B, 193–195, 194*f*
desenvolvimento e ativação, defeitos em, 468–471
diferenciação de
defeitos em, imunodeficiência variável comum a partir de, 470–471
em plasmócitos secretores de anticorpo, 269–270, 269*f*
diversidade em, geração de, 191–192
em proliferação, no centro germinativo, 260–261, 261*f*
folicular, 197–198, 197*f*
funções de, 119*f*, 120*t*
IFN-g em, 232
imatura, 196–197
maduro
repertório, seleção de, 198–199
subpopulações de, 197–198, 197*f*

maturação de
expressão do gene de Ig durante, 108–109, 108*f*
imunodeficiência causada por defeitos em, 466*f*
memória, *Ver* Células B de memória
receptor de complemento como, correceptor para, 166–167
receptores inibidores de, 169–170
recirculante, 198
reguladores transcricionais na determinação do destino das ativadas, 270–271
responsiva aos antígenos T-independentes, 271
subpopulações de, 197–198, 197*f*, 253, 271
zona marginal, 198, 271
Células B-1, 198, 271
Células B, 198
Células B-2, 197
Células B alorreativas, ativação de, 381
Células B auxiliares, ativação inicial e migração de, 256–257, 258*f*
Células B da zona marginal, 198
Células B de memória
geração de, 270
Ig de membrana expressa por, 27
Células B foliculares, 22*t*, 197–198, 197*f*
Células B imaturas, 196–197
Células B maduras, subpopulações de, 197–198, 197*f*
Células B recirculantes, 198
Células de Kupffer, receptor de complemento da família da imunoglobulina (CRIg) em, 290

Células de Langerhans, 18
Células de memória, 23–24
Célula(s) dendrítica(s), 3–4, 18–21, 19*f*, 482
clássica, 19–20, 121
folicular, 261
funções de, 119*f*, 120*t*
intestinal, amostragem de antígeno por, 311*f*
maturação de, 20*f*
na apresentação cruzada de antígenos para células T $CD8^+$, 139
na ativação da célula T *naive*, 209
na captura de antígeno
exibição e, 121–123, 122*f*
transporte e, 122
na diferenciação de uma subpopulação de célula T, 230
na lâmina própria, na imunidade inata no intestino, 311*f*
na pele, 122*f*
no sistema imune gastrintestinal, 310–311
no sistema imune inato, 74
plasmacitoide, 20–21, 74, 121
propriedades de, 122–123
subpopulações de, 20*t*
tolerogenicidade e, 338
Células dendríticas clássicas, 19–20
Células dendríticas foliculares (FDCs), 261
na infecção por HIV, 482
Células dendríticas intestinais, amostragem de antígeno por, 311*f*

Células dendríticas plasmacitoides, 20–21, 74, 121
Células de Paneth, na imunidade inata no intestino, 303
Células doadoras, reconhecimento direto de aloantígenos do MHC em, 378*f*
Células efetoras, 9, 23–24
Células efetoras $CD8^+$, 225
Células endoteliais vasculares, na apresentação de antígeno, 120*t*, 123
Células epiteliais
  como células apresentadoras de antígeno, 120*t*, 123
  tímica medular, 200
Células epiteliais corticais, 28–30
Células epiteliais medulares tímicas, 200
Células epiteliais tímicas medulares (CETMs), 28–30, 328, 329*f*
Células *microfold* (M), no epitélio intestinal, 304–306
Células *Natural Killer* (NK), 3–4, 22*t*, 27, 75
  ativação de, defeituosa, 462–463
  citocinas e, 78
  citotoxicidade celular dependente de anticorpo e, 281, 281*f*
  defeitos em, 462–463
  deficiências, 461*t*
  e bactérias intracelulares, imunidade inata para, 357–358
  funções de, 75–76, 75*f*
  ligantes e, 77, 77*f*
  moléculas de MHC de classe I e, 77*f*, 78
  motivos estruturais em, 76*f*–77*f*, 78
  na imunidade inata contra vírus, 363

na resposta imune a tumores, 404
receptores ativadores e inibidores de, 76–78, 76*f*
receptores inibidores de, 169–170
uterina, 321
Células indutoras do tecido linfoide (TLi), 75
Células linfoides inatas (CLIs), 27, 355
na doença alérgica, 440
produtora de citocina, 74–78, 74*f*
tipo I, e bactéria intracelular, 358
Células linfoides inatas secretoras de citocinas, 27
Células linfoides, inatas, *Ver* Células linfoides inatas (CLIs)
Células mesenquimais, como células apresentadoras de antígeno, 120*t*, 123
Células M, no intestino delgado, 305*f*
Células NKT, *Ver* Células T *Natural Killer* (NKT)
Células NK uterinas, 321
Células NK, *Ver* Células *Natural Killer* (NK)
Células reticulares fibroblásticas (FRCs), 33–34, 34*f*, 122
Célula(s), separação de, fluorescência-ativada, 536*f*, 537
Células supressoras mieloide-derivadas (CSMDs), 406–407
Célula(s) T
alorreativas, ativação de, 379–380, 380*f*
antígenos reconhecidos por, propriedades de, 118–119, 118*f*, 118*t*
auxiliar, 10, *Ver também* Células T auxiliares
deleção de, por morte celular apoptótica, 336–338, 337*f*
em infecções, 226*f*

expressão de gene em, ativação de fatores de transcrição que regulam, 161–164, 163*f*
memória, *Ver* Células T memória
migração e recirculação de, 47–53, 48*f*
movimento de, junto aos órgãos linfoides secundários, 49–51
naive, *Ver* Células T *naive*
receptores inibidores de, 169–170
recirculação de, através dos tecidos linfoides, 52
reconhecimento de aloantígenos por, 377–379, 377*f*
reguladora, 10, *Ver também* Células T reguladoras
restrição do MHC, 124, 125*f*
sinalização de receptor coestimuladora em, 164–165
sinalização por, proteínas tirosina fosfatases, modulação de, 164
tolerância central em, 327–328, 328*f*
tolerância periférica em, 328–338, 330*f*
vias sinalizadoras para
cálcio- e proteína quinase C-mediada, 161, 162*f*
inibidores de, 377*f*
proteína quinase ativada por mitógeno, 158–161
$\alpha\beta$
MHC-restrita, maturação de, 203–205
timócitos expressando, 205
$\gamma\delta$
timócitos expressando, 205
$\gamma\sigma$, reconhecimento de antígeno, 142
Células T antitumorais, imunoterapia celular adotiva com, 410–413

Células T auxiliares, 10
apresentação de antígenos em células B a, 257, 258*f*
ativação da célula B mediada por, 259, 259*f*
ativação inicial e migração de, 256–257, 258*f*
folicular, 261–263, 262*f*, *Ver também* Células T auxiliares foliculares
na diferenciação da célula T $CD8^+$, 245, 245*f*
produtora de citocinas tipo 2, ativação de, 440
respostas de anticorpo a antígenos proteicos, 256–271
Células T auxiliares $CD4^+$
apresentação de antígeno para, 118–119
na defesa contra bactérias intracelulares, 359, 360*f*
na infecção por HIV, 474–475
Células T auxiliares $CD4^+$, 403
na resposta adaptativa a bactérias extracelulares, 355*f*, 356
Células T auxiliar foliculares, indução e funções de, 261–263, 262*f*
Células T $CD8^+$
apresentação cruzada e, 139*f*
apresentação de antígeno a, 118–119, 123
na expressão do MHC, 136
respostas a, inibição de, 246, 246*f*
Células T citotóxicas $CD8^+$, na defesa contra bactérias intracelulares, 359
Células T de memória, 211
central, 53
desenvolvimento de, 220–222, 221*f*
efetora, 53

migração de, 53
moléculas de superfície expressas por, 26–27
na pele, 310
propriedades de, 221–222
Células T efetoras, 211
diferenciação de células T ativadas em, 220
migração para sítios de infecção, 50*f*, 52–53
Células T efetoras $CD4^+$
células Th17 como, 237–239
desenvolvimento de, 230–231, 237–238, 238*f*
funções de, 238–239, 239*f*
na defesa do hospedeiro, 239
propriedades de, 228–230, 229*f*
células Th1 como, 231–234
ativação de macrófago por, 233, 233*f*
desenvolvimento de, 230–231, 231*f*
funções de, 232–234, 232*f*
propriedades de, 228–230, 229*f*
células Th2 como, 234–237
desenvolvimento de, 230–231, 234–235, 234*f*
funções de, 235–237, 235*f*
na defesa do hospedeiro, 236–237
propriedades de, 228–230, 229*f*
diferenciação e funções de, 225–242
respostas imunes em, 225–228, 227*f*–228*f*
subpopulações de, 228–231, 229*f*

Células T efetoras $CD8^+$
diferenciação de, 243–250
em linfócitos T citotóxicos, 243–246, 244*f*
funções de, 243–250
produção de citocina por, 249
Células T efetoras de memória, 222
Células Th17, no sistema imune de mucosa, 311–312
Células Th1, respostas imunes mediadas por, anormal, na EI, 312
Células Th2
ativação de, para infecções helmínticas, 367
na doença alérgica, 440
na imunidade de barreira, 312
respostas de IgE dependentes de, em alergias alimentares, 314–315
Células T *naive*
migração de
para dentro dos linfonodos, 47–49, 49*f*
para o baço, 52
recirculação de, entre o sangue e os órgãos linfoides secundários, 47–52
saída de, a partir dos linfonodos, 51, 51*f*
Células T *Natural Killer* (NKT), 205, 240–241
no reconhecimento do completo CD1-lipídeo, 141–142
Células T invariantes associadas à mucosa (MAIT), 240–241
Células T reguladoras, 10, 22*t*, 332, 333*f*, 406
citocinas inibidoras produzidas por, 335–336
em autoimunidade, 336

em autotolerância, 336
geração e manutenção de, 334, 334*f*
manutenção de, coestimulação B7:CD28-mediada em, 213
marcadores fenotípicos e heterogeneidade de, 334
mecanismos de ação, 335
natural, 334
periférica, 334
regulação da imunidade no trato gastrintestinal, 312
supressão de linfócitos autorreativos por, 332–336
transferência ou indução de, para induzir tolerância doador-específica, 390–391
Células-tronco hematopoiéticas (CTHs) no desenvolvimento de linfócito, 180
transplante de, 393–395
Células T tumor-específicas, terapia celular adotiva com, 412–413
Células T γδ, 240
Centros germinativos, 33, 261*f*
células B em, proliferante, 260–261
seleção de células B de alta afinidade em, 267–268, 268*f*
Cérebro, imunoprivilégio no, 320–321
Cetuximabe, 413*t*
Chaperonas, em cadeias leves e pesadas de Ig, 107–108
CHIPS (proteína quimiocina inibidora de estafilococos), 297
Chlamydia, 353*t*–354*t*
Choque séptico, 90
a partir de resposta imune a bactérias extracelulares, 356
Ciclofilina, 161–163, 387–388

Ciclosporina, na rejeição de aloenxerto, 387–388, 388*f*
Cinina C2, 291
Círculos de excisão do receptor da célula T (TRECs), 545
Citocina fator de célula-tronco, 18
Citocina(s), 519
  antagonistas de, para doenças imunológicas, 428, 429*t*
  derivadas de mastócitos, 448
  em subpopulações de célula T $CD4^+$, 229–230
  estimulando a função NK, 78
  hepatopoiética, 30*t*
  inflamação mediada por, doenças causadas por, 424*f*, 425–427, 425*t*, 426*f*–427*f*
  na ativação de eosinófilo, 448
  na expressão do MHC, 128, 128*f*
  na imunidade inata, 9–10
  na regulação da imunidade no sistema gastrintestinal, 312
  nas respostas imunes adaptativas, 217–220
  papel de, na diferenciação da célula T $CD8^+$, 245–246
  produção de
    a partir da ativação de mastócito, 445
    por células T efetoras $CD8^+$, 249
  produzidas por células T reguladoras, 335–336
  pró-inflamatórias, 82–86, 83*t*
  propriedades gerais de, 34
  receptores para, 170–177, *Ver também* Receptores de citocina
Citocinas hematopoiéticas, 30*t*

Citólise, complemento-mediada, 294–295, 295*f*
Citólise mediada por complemento, 294–295, 295*f*
Citomegalovírus (CMV), 464
Citometria de fluxo, 534–537, 536*f*
  e células imunes circulantes, determinação de, 545
Citotoxicidade celular, dependente de anticorpo, 281, 281*f*
Citotoxicidade celular dependente de anticorpo (CCDA), 77–78, 281, 281*f*
Citotoxicidade, mediada por célula, dependente de anticorpo, 281, 281*f*
C-Jun N-terminal quinase (JNK), 160–161
C-Kit-ligante, 18
Clivagem, na recombinação V(D)J, 189–190, 190*f*
Clostridium tetani, 353*t*–354*t*
Coinibidores, de células T, 214–215
Colectinas, 61*f*, 81–82
Colite ulcerativa, 313–314
Complemento, 61*f*
  na ativação da célula B, 168*f*
  níveis e função de, 545
Complexo antígeno-receptor do linfócito B, 165–169
Complexo de ataque à membrana (MAC), 80, 288
  regulação da formação de, 293, 294*f*
Complexo hapteno-carreador, 110
Complexo principal de histocompatibilidade *loci*, humano e murino, 125–127, 126*f*
Complexo principal de histocompatibilidade (MHC)

alelos de, associado com autoimunidade, 343–344, 343*t*
apresentação cruzada, 139, 139*f*
apresentação de antígeno associada com significância fisiológica de, 139–141, 140*f*–141*f*
características de, 129*t*
classe II, deficiências em, autossômica recessiva, 472*t*
descoberta de, 123–124
humano, 124
murino, 123
genes de, 124–128, 126*f*
humano e *loci* murinos para, 125–127, 126*f*
haplótipo, 127
humano, mapa molecular de, 125, 126*f*
na imunidade celular, 10
restrição, 118–119, 124, 125*f*
Complexo receptor da célula T, sinalização da célula T e, 151–165
Complexos antígeno-anticorpo, 113*f*
Complexos CD1-lipídeo, reconhecimento pela célula NKT de, 141–142
Complexos silenciadores induzidos por RNA (RISC), 164
Componentes celulares, do sistema imune inato, 72–79
barreiras epiteliais como, 72–73, 73*f*
células dendríticas (DCs) como, 74, *Ver também* Célula(s) dendrítica(s)
células *natural killer* (NK) como, 75, *Ver também* Células *natural killer* (NK)
células linfoides inatas como, 74–78, 74*f*

fagócitos como, 73–74

linfócitos T e B com diversidade limitada de receptor de antígeno como, 78–79

mastócitos como, 79, *Ver também* Mastócito(s)

Componente secretor, do receptor poli-Ig, 308

Componentes sinalizadores de citocinas, mutações autossômicas recessivas em, 467

Contato sexual, transmissão de HIV e, 482

Contração, em respostas imunes adaptativas, 4*f*

Controladores de elite, de HIV, 485

Corantes fluorescentes, 543

Corpos apoptóticos, 337, 337*f*

Correceptor(es), 151

CD4 e CD8, na ativação da célula T, 154–156, 156*f*

na ativação da célula T, 211

para células B, receptores de complemento CR2/CD21 como, 166–167, 168*f*

Correceptores CD4, na ativação da célula T, 154–156, 155*f*–156*f*

Correceptores CD8, na ativação da célula T, 154–156, 155*f*–156*f*

Córtex parafolicular, 32

Corticosteroides

para asma, 453, 454*f*

para doenças imunológicas, 428

para rejeição de aloenxerto, 389

Corynebacterium diphtheriae, 353*t*–354*t*

Costimuladores

família B7 de, 212–215, 214*f*

família CD28 de, 212–215, 213*f*–214*f*
na ativação da célula T, 120, 212–215, 212*f*
nas respostas de célula T aos aloantígenos, 380–381
terapêutico, bloqueio, 215, 216*f*
vias de, 215
Cripticidinas, 73
Cromatografia, imunoafinidade, 533, 534*f*
Cromatografia por imunoafinidade, 533, 534*f*
Cross-priming, 139
Cryptococcus neoformans, 353*t*–354*t*, 361
CSF de granulócito (G-CSF), 519
CSF de granulócito-macrófago (GM-CSF), 519
CSF de monócito (M-CSF), 519
CTHs, *Ver* Células-tronco hematopoiéticas (CTHs)
CTLA-4 (antígeno 4 do linfócito T citotóxico), 169–170, 215–216
na regulação das respostas da célula T, 330, 331*f*–332*f*, 333*t*
CTLs, *Ver* Linfócitos T citotóxicos (CTLs)
CXCL13, na migração da célula B, 53
CyTOF, 537

D

DC-SIGN (CD209), 71*t*, 72
Decídua uterina, 321
Dectinas, 71*t*, 72, 361
Defeito de sinalização pré-BCR ligado ao X, 468–469

Defeitos autossômicos recessivos em pontos de controle do pré-BCR, 469, 469*t*

Defeitos de sinalização de ponto de controle, pré-TCR, 467–468

Defeitos de sinalização de TCR proximal, 472*t*

Defeitos de sinalização do receptor do tipo *Toll*, 461*t*

Defeitos imunes celulares, nas imunodeficiências combinadas graves, 469*t*

Defensinas, 58–59

na imunidade inata no intestino, 303

nas barreiras epiteliais, 73

Defesa antiviral, como resposta do sistema imune inato, 58

Defesa do hospedeiro

células Th17 na, 239

células Th2 na, 236–237

papel dos linfócitos T citotóxicos $CD8^+$ na, 249–250

Deficiência de adenosina desaminase (ADA), 464–467, 465*t*

Deficiência de C2, 296

Deficiência de cadeia α do TCR, 465*t*

Deficiência de *FoxN1*, 465*t*

Deficiência de MHC de classe I, 472*t*

Deficiência de purina nucleosídeo fosforilase (PNP), 465*t*, 466–467

Deficiência de RAG1, 465*t*

Deficiência de RAG2, 465*t*

Deficiências de adesão leucocitária (DALs), 46, 296, 462

tipo 1, 461*t*, 462

tipo 2, 461*t*, 462

tipo 3, 461*t*, 462

Deficiências de perforina, 472*t*
Deficiências seletivas de isotipo de imunoglobulina, 469–470
Deflagradores ambientais, para autoimunidade, 341, 341*f*
Degradação proteossômica, de proteínas citosólicas, 134
Deleção
  na tolerância da célula B, 339–340
  na tolerância da célula T, 327–328, 328*f*
Deleção clonal, 183
Denosumabe, 413*t*
Deriva antigênica, 364
Dermatite atópica, 319–320
  patogênese e terapia de, 454–455
Dermatite, atópica, 319–320
Desaminase induzida por ativação (AID)
  com transcritos de linhagem germinativa, mecanismo de, 264–265, 266*f*
  na troca de isotipo, 264–265
Desenvolvimento esplênico, defeitos em, 463
Desenvolvimento tímico, epitelial, defeituoso, 465*t*
Desgranulação, a partir da ativação do mastócito, 444–445
Desnutrição, imunodeficiências adquiridas a partir de, 459
Desnutrição proteico-calórica, imunodeficiências adquiridas de, 474, 474*t*
Dessensibilização, para doença alérgica, 455
Determinantes, 4–5, 140–141
  antigênica, 111, 111*f*
  em macromoléculas, 110

Determinantes antigênicos, 111, 111*f*
Determinantes conformacionais, 111
Determinantes lineares, 111
Determinantes neoantigênicos, 111
Diabetes *mellitus*, tipo 1, 425*t*, 433–434
  novas terapias para, 434
  patogênese de, 433–434
Diacilglicerol (DAG), nas vias de sinalização em linfócitos T, 161
Diálise de equilíbrio, 538, 538*f*
Diapedese, 45–46
Dicer, 164
Digestão proteolítica, de antígenos em lisossomos, 137
Direcionamento de gene, e camundongos transgênicos, 538–542, 539*f*–540*f*
Disgênese reticular, 465*t*, 467
Disgênesia, reticular, 465*t*, 467
Distúrbios mendelianos, causadores de autoimunidade, 346, 346*t*
Distúrbios multissistêmicos, com imunodeficiências, 473–474
Diversidade
  nas respostas imunes adaptativas, 3*t*, 4–5
  no reconhecimento de antígeno, 113
Diversidade combinatória, em células B e T, 191, 191*t*
Diversidade juncional, em células B e T, 191–192, 192*f*
Doador, 373
Doadores cadavéricos, 385
Dobra de Ig, 77

Doença autossômica recessiva SWA-símile, 472*t*

Doença celíaca, 314

Doença da imunodeficiência combinada grave ligada ao X (X-SCID), 181

Doença de Crohn, NOD e, 66

Doença de Graves, 421*t*

Doença do enxerto *versus* hospedeiro, 394, 394*f*

Doença do enxerto *versus* hospedeiro, 394–395

Doença do enxerto *versus* hospedeiro crônica, 394–395

Doença do soro, 106, 423, 423*f*

Doença do soro, 421–423

Doença granulomatosa, crônica, 88

Doença granulomatosa crônica (DGC), 88, 461–462, 461*t*

Doença micobacteriana, suscetibilidade mendeliana a (SMDM), 461*t*, 463

Doença(s) alérgica(s)

- células Th2 e células linfoides inatas em, 440
- em humanos, patogênese e terapia de, 452–455
- imunoterapia para, 455
- suscetibilidade genética a, 450–452, 451*t*

Doenças autoimunes, 5, 325, 417

- características gerais de, 341–342
- imunossupressão para, 474*t*

Doenças da imunodeficiência

- adquirida, 475–486, *Ver também* Síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS)
- características gerais de, 459

congênita, 459–474, *Ver também* Imunodeficiência(s) congênita(s)
visão geral de, 459–460
Doenças de hipersensibilidade, 417–435
causas de, 417–418
definição de, 417
doenças mediadas por anticorpo, 419
doenças mediadas por imunocomplexos, 421–424, 424*t*
hipersensibilidade mediada pela célula T (tipo IV), 418*t*, 419
imediata (tipo I), 418–419, 418*t*
imunológica, abordagens terapêuticas para, 428–429, 428*f*
mecanismos e classificação das reações em, 418–419, 418*t*
Doenças de hipersensibilidade mediada pela célula T, 418*t*, 419, 424*f*
Doenças de hipersensibilidade mediadas por anticorpo, 418*t*, 419, 419*f*, 424*f*
causada por anticorpo contra antígenos de células e tecidos fixos, 419–421, 421*t*, 422*f*
mediada por imunocomplexo, 421–424
Doenças de hipersensibilidade mediadas por imunocomplexos, 418*t*, 419, 421–424, 424*t*
modelos experimentais de, 423
patogênese de, 423–424
Doenças imunológicas, patogênese e estratégias terapêuticas para, 430–434
Doenças infecciosas, comuns, efetividade das vacinas para, 2*t*
Doenças inflamatórias
células Th17 em, 239
em subpopulações de células T $CD4^+$, 229

imunomediada, 340
Doenças inflamatórias imunomediadas, 340
Doenças mediadas por células, 425*t*
Domínio de homologia de Pleckstrin (PH), 149
Domínio de homologia Rel, 175
Domínio do receptor do tipo *Toll*/de IL-1 (TIR), 172–173
Domínio(s) de imunoglobulina (Ig), 42, 99–100, 100*f*
Domínio SH2 contendo inositol fosfatase (SHIP), 164
Domínio tioéster, 282–284, 286*f*
Drosha, 164
Ducto torácico, 30–31

E

E3 ubiquitina ligases, degradação de proteínas sinalizadoras, 170, 171*f*
Eczema, 425–426
patogênese e terapia de, 454–455
Edição do receptor, 183, 198–199
tolerância de célula B central, 339
Efeito hapteno-carreador, 257–259
Efeitos alostéricos, 110
Efeitos enxerto *versus* leucemia, 414
Efeito Warburg, durante a ativação da célula T, 165, 166*f*
Egresso tímico da célula T defeituosa, 465*t*
Eletroforese, 98
Eletroforese de proteínas séricas, 545

Elisa (ensaio imunossorvente ligado à enzima), 531–533, 532*f*
Endotelite, 382–383
Endotoxinas, 354
Engajadores biespecíficos de célula T (BiTES), 413–414
Ensaio do *burst* oxidativo do neutrófilo, 545
Ensaio ELISpot, 544
Ensaio imunossorvente ligado à enzima (Elisa), 531–533, 532*f*
Ensaio imunossorvente ligado à enzima sanduíche, 531–533, 532*f*
Ensaios com *beads* para citocinas, 537
Ensaios de citometria de fluxo, 387
Ensaios de citotoxicidade de célula NK, 545
Ensaios de proliferação, 543
Ensaios de proliferação de célula T, 545
Ensaios de secreção de citocinas, 543–544
Ensaios imunológicos, aplicações no diagnóstico clínico de, 544–545
Enteropatia glúten-sensível, 314
Enteropatia inflamatória em (EI), 313–314, 425*t*, 434
Enxerto alogênico, 374
Enxerto autólogo, 374
Enxerto(s), 373
  alogênico, 374
  autólogo, 374
  singênico, 374
  xenogênico, 374
Enxerto singênico, 374
Enxerto xenogênico, 374

Enzimas
grânulo, derivado de mastócitos, 446*f*, 447
proteolítica
em mastócitos, 79
moléculas microbicidas e, 88
Enzimas do grânulo, derivadas de mastócitos, 446*f*, 447
Enzimas proteolíticas
em mastócitos, 79
moléculas microbicidas e, 88
Eomesodermina, 243
Eosinófilo(s), 14–15
ativação de, em sítios de reação de fase tardia, 448
contagens normais de, 14*t*
mediadores produzidos por, 442*t*
morfologia de, 14*f*, 441*f*
na imunidade celular, 10
nas respostas imunes inata e adaptativa, 18
propriedades de, 441*t*, 448
Epítopos, 4–5
antigênico, 111*f*
imunodominante, 140–141, 141*f*
Epítopos imunodominantes, 140–141, 141*f*
Eritroblastose fetal, 393
Escherichia coli, 353*t*–354*t*
Esclerose múltipla, 425*t*, 432–433
novas terapias para, 433

patogênese de, 432–433
E-selectina, no recrutamento de leucócito, 41–42, 41*t*
Esfingosina 1-fosfato (S1P), 51
Espalhamento de epítopo, 432–433
em distúrbios autoimunes, 342
Espécies reativas de oxigênio, moléculas microbicidas e, 88
Especificidade
em respostas imunes adaptativas, 4–5, 4*f*
no reconhecimento de antígeno, 113
Espru não tropical, 314
Espru, não tropical, 314
Estímulos inflamatórios inespecíficos, 414
Exacerbação, 448–449
Exaustão, 365
Exaustão celular, célula T, 246, 246*f*
Exaustão da célula T, 246, 246*f*
Exclusão alélica, 195
Exclusão de isotipo de cadeia leve, 195–196
Éxon I, na troca de isotipo, 264
Exotoxinas, 354
Expansão clonal, 23–24
de células T, 220, 220*f*
em respostas imunes adaptativas, 4–5, 9

F

Fab (fragmento, ligação de antígeno), 100, 101*f*

Fagócito(s)
ativação de
induzida por antígeno, com especificidade para antígeno único, 544
populações de célula B policlonais, 544
ativado, ingesta e *killing* de microrganismos por, 59–62, 87*f*
atividade microbicida defeituosa de, 461–462
células T em, 226–227
defeitos em, 462–463
mononuclear, 15–17
maturação de, 16*f*
morfologia de, 16*f*
na resposta de imunidade inata, a bactérias extracelulares, 357–358
na resposta imune adaptativa
a bactérias intracelulares, 358
no sistema imune inato, 73–74
respostas funcionais de, 14–17
Fagocitose
ativação do complemento e, 293–294, 295*f*
mediada por anticorpo, 277–281, 419–420, 420*f*
na resposta inflamatória, 87*f*
papel dos receptores Fcγ em, 280–281, 280*f*
Fagolisossomos, 137
Fagossomos, 87–88, 137, 280–281
Família B7, de coestimuladores, 212–215, 214*f*
Família da IL-1, 172–173, 172*f*

Família de receptores de hematopoetina, 170–171, 172*f*
Família de receptores imunoglobulina *killer* (KIR), 247
Família de Src quinases, 148, 148*f*
Família de Syk quinases, 148*f*, 149
Família de Tec quinases, 148*f*
Família do receptor de interferon, 171, 172*f*
Família do receptor de TNF, 171–172, 172*f*–173*f*
Família do receptor do fator de necrose tumoral (TNF), na ativação da célula T, 215
Família Notch, proteínas receptoras de, 148
Fármacos, imunodeficiências adquiridas a partir de, 475
Fas-ligante (FasL), 338
  no *killing* da célula-alvo, 248–249
Fator acelerador de decaimento (DAF), 292*t*
Fator ativador de plaquetas (PAF), derivado de mastócitos, 446*f*, 448
Fator B, 284–285, 285*t*
Fator D, 284–285, 285*t*
Fator da célula-tronco (c-Kit-ligante), 519
Fator de ativação de célula B (BAFF), 24–25
Fator de crescimento da célula T (TCGF), 217–218
Fator de necrose tumoral (TNF), 519
  antagonistas de, 429*t*
    para lúpus eritematoso sistêmico, 430
  na resposta inflamatória, 83–84, 83*t*, 84*f*
  para bactérias intracelulares, 359
Fator de transcrição E2A, no comprometimento de linfócitos com a linhagem B, 180

Fator de transcrição EBF, no comprometimento de linfócitos com a linhagem B, 180

Fator de transcrição GATA-3, no comprometimento de linfócitos com a linhagem T, 180

Fator de transcrição Notch-1, no comprometimento de linfócitos com a linhagem T, 180, 181*f*

Fator de transcrição Pax-5, no comprometimento de linfócitos com a linhagem B, 180

Fatores ambientais, na alergia, 451–452

Fatores de restrição do hospedeiro, 484

Fatores de transcrição

ativação de, na expressão de genes na célula T, 161–164, 163*f*

na diferenciação de subpopulação de célula T, 230

no desenvolvimento do linfócito, 180

Fatores estimuladores de colônia, 28

Fator estimulador de colônia de macrófago, 15

Fator estimulador de colônias de granulócito (G-CSF), na produção de neutrófilo, 14–15

Fator estimulador de colônias de granulócito-macrófago (GM-CSF), 316–317

Fator H, 292*t*

Fator I, 292*t*, 293

Fator inibidor de leucemia (LIF), 519

Fator Kruppel-símile 2 (KLF-2), na manutenção do fenótipo da célula T *naive*, 27

Fator nefrítico C3 (C3NeF), 296

Fator nuclear de células T ativadas (NFAT), 161–164, 163*f*

Fator nuclear-κB (NF-κB)

ativação, vias de, 175–177, 176*f*
na expressão de gene de célula T, 164
via, 58–59, 64–65
Fator transformador do crescimento-β (TGF-β), 519
na regulação da imunidade do sistema gastrintestinal, 303
Tregs e, 334–335
Fc (fragmento, cristalizável), 100, 101*f*
FcRn, 298
FcRγ, 72
FcγRI (CD64) como, 278–280
FcγRIIA como, 280
FcγRIIB
associado com doença autoimune, 344, 345*t*
na regulação da ativação da célula B, 272–273, 272*f*
sinalização de inibição por, 281
FcγRIIB como, 280
FcγRIIC como, 280
composição da subunidade de, 279*f*
na fagocitose, 280–281, 280*f*
FcγRII (CD32) como, 280
Febre do feno, 453–454
Febre mediterrânea (FM), 70–71
Febre reumática
aguda, 421*t*
após infecção faríngea, 356
Feedback, anticorpo, 272–273

Feedback de anticorpo, 272–273
Fendas de ligação ao peptídeo, 128–129, 132*f*
α-fetoproteína (AFP), 402
Feto de mamífero, imunoprivilégio de, 321–322
Feto, mamífero, imunoprivilégio em, 321–322
Ficolinas, 61*f*, 81–82, 81*f*
Fingolimode (FTY720), 52
  para esclerose múltipla, 433
Flt3-ligante, na maturação da célula dendrítica, 18
Folículos, 32
Folículos de célula B, 198
Fosfatase alcalina, 537–538
Fosfolipase C (PLC) fosfatidilinositol-específica, na sinalização BCR, 168
Fosfolipídeo fosfatidilinositol 4,5-bisfosfato (PIP2), 161
Fosforilação de tirosina, na ativação da célula T, 157*f*
FoxP3, 333–334
Fractalcina, 47
Fragmento C3b (iC3b) inativado, 42
Funções celulares anormais, 421
Funções celulares, anormais, 421
Funções efetoras
  de anticorpo, características relacionadas a, 114–115
  de células T alorreativas, 381
Fungos
  imunidade a, 360–361

imunidade inata e adaptativa a, 361, 361*f*
mecanismos de patogenicidade de, 353*t*–354*t*
Fungos extracelulares, 353*t*–354*t*
Fungos intracelulares, 353*t*–354*t*
Fusão do grânulo, 472*t*

G

Gamaglobulinas, 98
Gangliosídeos, 402
GATA-3, 234–235
Gemtuzumabe ozogamicina, 413*t*
Gene associado à diferenciação do melanoma 5 (*MDA5*), 68
Gene de *Drosophila*, imunidade inata e, 63
Gene de recombinação-ativação 1 e 2, 189–190
Gene *CD40L*, mutações em, 259–260
Gene *Ig*
mutação somática de, maturação da afinidade e, 266–269, 267*f*
organização na linhagem germinativa de, 184–186, 184*f*
Gene *TCR*, diversidade em, geração de, mecanismos que contribuem para, 191*t*
Gene(s)
associado com atopia e asma, 451*t*
histocompatibilidade principal, 124–128
loci humano e murino para, 125–127, 126*f*
histocompatibilidade secundária, 124
Ig, organização na linhagem germinativa de, 184–186, 184*f*

mutante, neoantígenos codificados por, 399
receptor de antígeno, *Ver* Genes de receptores de antígeno
resposta imune, 124
Genes de receptores antigênicos
diversidade de, 186–187, 187*f*
em linfócitos B e T, rearranjo de, 183–192
no desenvolvimento de linfócito, rearranjo e expressão de, 179–207
Genes de resposta imune, 124
Genes herdados (linhagem germinativa), 62
Genes *Ig V*, mutações somáticas em, 266, 267*f*
Geração de célula sanguínea, medula óssea em, 28, 29*f*
Glicocálice, 302–303
Glicólise aeróbia, durante a ativação da célula T, 165
Glicólise, aeróbica, durante a ativação da célula T, 165
Glicoproteína C-1, 297
Glicoproteínas de membrana integrais, tipo I, 63–64
Glicoproteínas de membrana integrais tipo I, 63–64
Globulina antitimócito, para rejeição de enxerto, 388–389
Globulina, antitimócito, para rejeição de enxerto, 388–389
Glomerulonefrite
mediada por anticorpo, 422*f*
pós-estreptocócica, 423–424, 424*t*
Glomerulonefrite mediada por anticorpo, 422*f*
GlyCAM-1 (molécula de adesão celular contendo glicana 1), 48
Golpe letal, 247
Gota, ativação do inflamassomo em, 70

GP160, 297
Granulisina, 248
Granulócitos neutrofílicos, 14–15
Granulomas, 426–427, 427*f*
Grânulos azurofílicos, 14–15
Grânulos citoplasmáticos, em mastócitos, 79
Granzimas, 75–76
  função de, 247–248
Grupamento de ativação supramolecular (SMAC), formação de, 158

H

Haplótipo, MHC, 127
Haplótipos KIR, 78
Hapteno, 110
Helicobacter pylori, NOD e, 66
Helmintos, depuração mediada por anticorpos, 281
Hematopoiese, 28, 29*f*
Hepatite B, 353*t*–354*t*, 363–364
Herpes simples, 353*t*–354*t*
H-ficolina, na ativação do complemento, 289*t*
Hibridomas, 106, 107*f*
Hipermutação somática, 266
Hipersensibilidade, 418
  imediata, 437, *Ver também* Reações alérgicas, Alergia(s)
  tipo tardio, 426–427, 426*f*–427*f*
Hipersensibilidade do tipo tardio (DTH), 227–228, 426–427, 426*f*–427*f*

Hipersensibilidade imediata, 418–419, 418*t*, *Ver também* Reações alérgicas, Alergia(s)
Hipertireoidismo, 421*t*
Hipogamaglobulinemias, 469*t*
Hipótese da higiene, 451–452
Hipótese da seleção clonal, 4–5, 5*f*
Hipótese de um gene-um polipeptídeo, 183–184
Hipótese dos dois sinais, 92
Histamina, derivada de mastócitos, 446*f*, 447
Histocompatibilidade-2, 123
Histoplasma capsulatum, 353*t*–354*t*, 361
HIV, *Ver* Vírus da imunodeficiência humana (HIV)
HLA-DM, 138, 138*f*
HLA-E, 169
HLA, *Ver* Antígenos leucocitários humanos (HLA)
Homing
  de células T *naive*
    para linfonodo e tecidos linfoides, 47–48, 49*f*
    para o baço, 52
  leucócito, 39
Homing de leucócito, 39
Homologia Src 2 (SH2), 148, 148*f*
Homologia Src 3 (SH3), 148, 148*f*
Hormônios, em autoimunidade, 348
Horror autotóxico, 340
Hospedeiro, 373

I

90Y-Ibritumomabe tiuxetana, 413*t*
Idiotipos, de anticorpos, 105–106
IgA, 103–104, 104*f*, 104*t*
  deficiência de, seletiva, 469*t*
  intestino, 307
    ao longo das células epiteliais, 310*f*
    troca de classe em, 307–308
      intestino, 309*f*
IgD, 104*t*
IgE, 104*f*, 104*t*
  ligação de, a mastócitos e basófilos, 442–443
  na imunidade mediada por células, 10
  produção de, 439–440
  reações alérgicas dependentes de, 438–439, *Ver também* Reações alérgicas dependentes de IgE
  reações imunes mediadas por, papel protetor de, 455–456
IgG, 101*f*, 104*f*, 104*t*
  intestinal, 306–307
IgG1, 77–78
IgG2, deficiência de, seletiva, 469*t*
IgM, 104*f*, 104*t*
ILC1s, 74–75, 74*f*
ILC2s, 74–75, 74*f*
ILC3s, 74–75, 74*f*

Imagem de Nomarski, 159*f*
Imunidade
a bactérias extracelulares, 353*t*–354*t*, 354–357, *Ver também* Bactérias, extracelulares
a bactérias intracelulares, 357–360, *Ver também* Bactérias, intracelulares
adaptativa, 2–3, *Ver também* Imunidade adaptativa
a fungos, 360–361
a microrganismos, 351–372
a parasitas, 366–368, *Ver também* Parasita(s)
a tumores, 397–416
demonstração experimental de, 397–398
a vírus, 362–366, *Ver também* Vírus
humoral, *Ver* Imunidade humoral
inata, 57–95, *Ver também* Imunidade inata
mediada por células, *Ver* Imunidade celular
mucosa, 299
nas barreiras epiteliais, 299–324, *Ver também* Imunidade regional
características gerais de, 299–301
regional, 299, 300*t*, *Ver também* Imunidade regional
Imunidade adaptativa, 2–10, 2*f*
a bactérias extracelulares, 355–356, 355*f*
a bactérias intracelulares, 358–360, 359*f*–360*f*
a fungos, 361, 361*f*
a microrganismos, 2
a parasitas, 366–368, 367*f*
a vírus, 362*f*, 363–364

características do, 3*t*
comparada com a imunidade inata, 58
especificidade do, 59*t*
estimulação de, 92–93, 92*f*
imunidade celular em, 10
linfócitos em, 21–27
mecanismos do, 2*f*
mecanismos efetores para, e microrganismos, 351, 352*f*
no crescimento tumoral, 404–405, 405*f*
no sistema respiratório, 316
no trato gastrintestinal, 304–312, *Ver também* Imunidade no sistema gastrintestinal, adaptativa
reconhecimento de antígeno por linfócitos em, 7*f*
Imunidade adquirida, *Ver* Imunidade adaptativa
Imunidade celular
na imunidade adaptativa, 10
para infecções fúngicas, 361
visão geral de, 5–8
Imunidade celular, ensaios para, 545
Imunidade do sistema gastrintestinal, 301–315, 302*f*
adaptativa, 304–312
anatomia funcional em, 304–306
regulação
microbioma comensal em, 313
por células T reguladoras e citocinas, 312
Imunidade especializada, em barreiras epiteliais e tecidos imunoprivilegiados, 299–324

Imunidade específica, 2–3
Imunidade humoral, 10, 225
a bactérias extracelulares, 355–356
a infecções virais, 363
defeitos em, nas imunodeficiências combinadas graves, 459–460, 463–464
ensaios para, 545
induzida por vacina, 276*t*
mecanismos efetores de, 275–298
neonatal, 297–298
no trato gastrintestinal, 306–310
sistema complemento em, 281–297
vacinas e, 369
visão geral de, 5–8, 275–277
Imunidade inata, 2–3, 2*f*, 57–95
a bactérias extracelulares, 354–355
a bactérias intracelulares, 357–358, 359*f*
a fungos, 361, 361*f*
a parasitas, 366
a vírus, 362–363, 362*f*
características comparativas de, imunidade adaptativa e, 58
características de, 3*t*
citocinas em, 82–86, 83*t*
defeitos, nas imunodeficiências congênitas, 460–463, 461*t*
defesa inicial de, 3–4
definição de, 57

ensaios para, 545
especificidade de, 59*t*
evolução de, 58–59
funções de, 57–58
gastrintestinal, 301–304, 302*f*
mecanismos efetores para, e microrganismos, 351, 352*f*
mecanismos que limitam, 93
moléculas efetoras solúveis de, 79–82, 80*f*–81*f*
colectinas e ficolinas, 81–82, 81*f*
pentraxinas, 80–81
sistema complemento, 79–80
no crescimento tumoral, 404–405, 405*f*
no sistema respiratório, 315–316
reações de, 57–58
receptores de reconhecimento de padrão associados à célula e, 62–72
padrões moleculares associados a patógeno e padrões moleculares associados a patógeno, e padrões moleculares dano-associados, receptores citosólicos para, 66–71
receptores do tipo *Toll* (TLRs), 63–66
resposta antiviral de, 90–92
resposta inflamatória em, 82–90, *Ver também* Resposta inflamatória
consequências sistêmicas e patológicas de, 88–90
fagócitos ativados, ingesta e *killing* de microrganismos por, 87–88, 87*f*
recrutamento de leucócitos para o sítio de infecção em, 86–87, 86*f*

sensores de, 62–72
transtornos congênitos de, 461*t*
visão geral de, 57–59
Imunidade mediada por célula T, no trato gastrintestinal, 310–312
Imunidade nativa, *Ver* Imunidade inata
Imunidade natural, *Ver* Imunidade inata
Imunidade neonatal, 297–298
Imunidade passiva, 6–7, 8*f*
Imunidade regional
características de, 300*t*
cutânea, 316–320
genitourinária, 316
imunidade no sistema gastrintestinal como, 300*t*, 302*f*, *Ver também* Imunidade no sistema gastrintestinal
Imunização passiva, 370–371
Imunocomplexos, 112–113, 113*f*
Imunodeficiência(s)
adquirida, 474–475, 474*t*
afetando linfócitos T ou B, características de, 460*t*
após o transplante de célula-tronco hematopoiética, 395
congênita, 460–474
distúrbios multissistêmicos com, 473–474
variável comum, 465*t*
Imunodeficiências adquiridas, 459, 460*t*, *Ver também* Síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS)
Imunodeficiências combinadas graves (SCIDs), 460, 463–468, 465*t*
a partir da ativação defeituosa da célula B, 468–471

a partir de defeitos de recombinação V(D)J, 467–468
a partir de defeitos de sinalização de ponto de controle do pré-TCR, 467–468
ligada ao X, 465*t*, 467
Imunodeficiência(s) congênita(s), 459–474
abordagens terapêuticas para, 474
ataxia-telangiectasia como, 473–474
combinada grave, 460, 463–468, 465*t*
defeitos em
de desenvolvimento e ativação de célula B, 468–471
de imunidade inata, 461*t*, 471
Imunodeficiências primárias, 459–474
Imunodeficiências secundárias, 474–475, 474*t*
Imunodeficiência variável comum, 469*t*, 470–471
Imunodesregulação, poliendocrinopatia e enteropatia ligada ao X (IPEX), 314, 333, 334
Imunodesvio associado à câmara anterior, 320
Imunodiagnóstico, anticorpos monoclonais para, 106
Imunoensaios, quantificação de antígenos por, 531–533, 532*f*
Imunoevasão
por bactéria intracelular, 360
por bactérias extracelulares, 356–357, 357*t*, 358*f*
por HIV, mecanismos de, 485
por parasitas, 368, 368*t*
por vírus, 364–366, 364*t*, 365*f*
Imunofluorescência, 537–538
Imunogenicidade

de aloenxertos, métodos para diminuir, 385–387, 386*f*
de antígenos proteicos, 140–141, 141*f*
redução de, e parasitas, 368
Imunógenos, 5–6, 110
Imunoglobulina E (IgE), *Ver* IgE
Imunoglobulina G (IgG), intravenosa, 429
Imunoglobulina M (IgM), *Ver* IgM
Imunoglobulinas (Igs), 98, 98*t*, *Ver também* Anticorpo(s)
moléculas de, síntese, montagem e expressão de, 107–110
propriedades de, 152*t*
Imuno-histoquímica, 537–538
Imunoinflamação, 238
Imunologia
técnicas laboratoriais em, 531–545, *Ver também* Técnicas laboratoriais
transplante, 373–396, *Ver também* Imunologia de transplantes
Imunologia de transplante, 373–396
princípios gerais de, 373–374
Imunomoduladores, 370
Imunoprecipitação, 533, 534*f*
Imunoprivilégio
de feto de mamífero, 321–322
no cérebro, 320–321
no olho, 320
no testículo, 321
Imunorreceptores, 145–178

família de, 149–151, 150*f*
não receptores tirosina quinases e, 147
Imunorregulação, papel do microbioma comensal em, 313
Imunossupressão
iatrogênica, 475
para rejeição de aloenxerto, 387–390, 387*f*
Imunoterapia
para doenças alérgicas, 455
para esclerose múltipla, 433
para tumores, 407–414, 407*f*
bloqueio das vias de inibição da célula T, 408–409
imunoterapia celular adotiva, 410–413
vacinação com antígeno tumoral, 409–410, 410*f*
Imunoterapia celular adotiva, para tumores, 410–413
Imunoterapia passiva, com anticorpos, 413–414, 413*t*
Imunotoxinas, 414
Imunovigilância, 397
Infecção aguda (inicial), 479
Infecção(ões)
controle de, nas imunodeficiências congênitas, 462
imunodeficiências adquiridas a partir de, 475
sítios de
migração de linfócitos T efetores para, 50*f*, 52–53
migração de neutrófilos e monócitos para, 46–47
recrutamento de leucócito para, na resposta inflamatória, 86–87, 86*f*

suscetibilidade aumentada, devido à imunodeficiência, 459–460, 460*t*
Infecção pelo vírus da coriomeningite linfocítica (LCMV), 363–364
Infecções helmínticas
imunidade adaptativa a, 366–367
imunidade inata a, 366
Infecções por protozoários
imunidade adaptativa a, 366–367
imunidade inata a, 366
Inflamação, 355
aguda
consequências sistêmicas e patológicas de, 88–90
definição de, 82
desenvolvimento de, 82
a partir de resposta imune a bactérias extracelulares, 356
célula T, 227–228
como resposta do sistema imune inato, 58
crônica, desenvolvimento de, 82
definição de, 3–4
granulomatosa, 426–427, 427*f*
mediada por anticorpo, 420–421, 420*f*
mediada por citocina, doenças causadas por, 424*f*, 425–427, 425*t*, 426*f*–427*f*
na autoimunidade, 342
quimiocinas em, 44–45
recrutamento de leucócito em, 39
Inflamação dependente de célula T, 227–228

Inflamação granulomatosa, 426–427, 427*f*
Inflamação rica em neutrófilos, em IL-17, 238–239
Inflamassomos, 67*f*, 68–71, 69*f*
Influenza, 353*t*–354*t*, 363
Inibidor C1 (C1 INH), 291, 292*f*, 292*t*
Inibidor de complemento estafilocócico (SCIN), 297
Inibidores da migração de leucócitos, para doenças imunológicas, 429
Inibidores de calcineurina, na imunossupressão, 387–388, 388*f*
Iniciação de sinal
  pelo receptor de célula B, 165–166, 167*f*
  pelo receptor de célula T, 153–154
Inositol 1,4,5-trifosfato (IP3), em vias sinalizadoras em linfócitos T, 161
Insulina, doenças autoimunes e, 344–345, 345*t*
Integrinas
  adesão de leucócitos ao endotélio mediada por, 45
  ativação de, 42, 43*f*
  no recrutamento de leucócito, 41*t*, 42
Interações antígeno-anticorpo, quantificação de, 538, 538*f*
Interações leucócito-endotélio, 45–46, 46*f*
Interações peptídeo-MHC, características de, 131–132
Interferons do tipo I, 20–21, 90, 91*f*
Interferon(s) (IFNs)
  tipo I, 20–21, 52
    defeitos herdados em, 463
    e diferenciação da célula T $CD8^+$, 246

na imunidade inata contra vírus, 362–363
Interferon-α (IFN-α), 519
antagonistas de, 429*t*
para lúpus eritematoso sistêmico, 430
Interferon-β (IFN-β), 519
Interferon-γ (IFN-γ), 425, 519
na expressão do MHC de classe II, 127–128, 128*f*
na subpopulação Th1, 231–232, 232*f*
produção pela célula T $CD8^+$ de, 249
Interferon-λs (interferons do tipo III), 519
Interleucina-10 (IL-10), 93, 519
na regulação da imunidade do sistema gastrintestinal, 303
produção e estrutura de, 335
Interleucina-11 (IL-11), 519
Interleucina-12 (IL-12), 519
cadeia p40 de, antagonistas de, 429*t*
na diferenciação da célula T $CD8^+$, 246
na resposta inflamatória, 85
Interleucina-13 (IL-13), 519
antagonistas de, 429*t*
para lúpus eritematoso sistêmico, 430
em células Th2, 236
Interleucina-15 (IL-15), 519
em células Th2, 236
na diferenciação de célula T $CD8^+$, 246
na resposta inflamatória, 86

Interleucina-17A (IL-17A), 519
Interleucina-17F (IL-17F), 519
Interleucina-17 (IL-17)
antagonistas de, 425, 429*t*
em células Th17, 238–239
Interleucina-18 (IL-18), 519
na resposta inflamatória, 85–86
Interleucina-1 (IL-1), 69*f*
antagonistas de, 429*t*
para lúpus eritematoso sistêmico, 430
na resposta inflamatória, 83*t*, 84–85
Interleucina-1α (IL-1α), 519
Interleucina-1β (IL-1β), 519
Interleucina-21 (IL-21), 519
em células Th17, 239
na diferenciação de célula T $CD8^+$, 246
Interleucina-22 (IL-22), 519
em células Th17, 239
Interleucina-23 (IL-23), 519
cadeia p40 de, antagonistas de, 429*t*
Interleucina-26 (IL-26), 519
Interleucina-2 (IL-2), 519
ações biológicas de, 219*f*
consumo de, 335
em células NK/células B, 220
em células T ativadas por antígeno, 218

em células T reguladoras, 218
funções de, 218–220
regulação de, expressão de receptor, 219*f*
secreção/expressão do receptor, 217–218, 218*f*
sobrevida de células T reguladoras dependente de, 334, 334*f*
Interleucina-2 (IL-2), e diferenciação da célula T $CD8^+$, 245
Interleucina-33 (IL-33), 519
Interleucina-3 (IL-3), 519
Interleucina-4 (IL-4), 519
antagonistas de, 429*t*
para lúpus eritematoso sistêmico, 430
em células Th2, 234–236, 234*f*
Interleucina-5 (IL-5), 519
Interleucina-6 (IL-6), 519
na resposta inflamatória, 85
Interleucina-7 (IL-7), 24–25, 519
na proliferação de progenitores de célula T, 181
Interleucina-9 (IL-9), 519
Intestino, plasmócitos secretores de IgA em, 308*f*
IPEX (imunodesregulação, poliendocrinopatia, enteropatia, ligada ao X), 314, 333–334
Ipilimumabe, 413*t*
IRF4, 270–271
Isotipos
de anticorpos, 103–104, 104*t*
secretados por células B, 54–55

troca de, 114*f*, 115, *Ver também* Troca de isotipo de cadeia pesada (classe)
Isotipos de anticorpo humano, 104*t*

J

Janus quinase 1 (JAK1), 335
Janus quinases transdutoras de sinal e ativadoras da sinalização de transcrição, 173–175, 174*f*
Junção, na recombinação V(D)J, 190–191, 190*f*

K

Kabat-Wu *plot*, 102*f*

L

Lâmina própria, 301, 302*f*
respostas imunes adaptativas gastrintestinais, 306
Langerina (CD207), 71*t*, 72
Latência, 352
DNA viral e, 363
Lectina ligante de manose (MBL), 80–81, 80*f*–81*f*
na ativação do complemento, 289*t*
Legionella pneumophila, 353*t*–354*t*
Lepra lepromatosa, 359–360
Lepra, resposta de célula T em, 359–360
Lepra tuberculoide, 359–360
Lesão tecidual, sítios de, migração de neutrófilos e monócitos, 46–47
Leucócito(s)

circulação e migração para os tecidos, 39–56
contagens normais de, 14*t*
inflamatório, na reação de fase tardia, 449
polimorfonuclear, 14–15
receptores Fc de, 278–281, 279*t*
transmigração de, através do endotélio, 45–46
Leucócitos polimorfonucleares, 14–15
Leucoencefalopatia multifocal progressiva, 321
Leucotrienos, derivados de mastócitos, 446*f*, 447
LFA-1 (CD11aCD18), 41*t*, 42
L-ficolina, na ativação do complemento, 289*t*
Licenciamento, 215
Ligação de antígeno
bases estruturais e químicas de, 111–113
características biológicas do antígeno e, 110–111, 111*f*
Ligação de complexo principal de histocompatibilidade (MHC), 399
Ligação peptídeo-MHC, 131–133, 132*f*
no retículo endoplasmático, 136
Linfa, 30–31
Linfoblasto(s), 24
morfologia de, 26*f*
Linfócito(s), 4
alorreativo, ativação e funções efetoras de, 379–381, 380*f*
ativação de, anatomia de, 24*f*
B, *Ver* Célula(s) B
classes de, 21–23, 22*t*

contagens normais em, 14*t*
desenvolvimento de, 23, 179–207
estágios de, 193–198, 193*f*–194*f*
pontos de controle em, 182, 183*f*
visão geral de, 179–183, 180*f*
desenvolvimento, em diferentes tecidos, 300*t*
efetor, 25–26, *Ver também* Linfócito(s) efetor(es)
intestinal, propriedades de *homing* de, 307*f*
grande, 24
morfologia de, 26*f*
intestinal, propriedades de *homing* de, 307*f*
maturação de, 23*f*, 192–193
memória, 26–27, 27*f*
morfologia de, 26*f*
na imunidade adaptativa, 21–27
naive, 24–25, 25*t*, 27*f*
pele, propriedades de *homing* de, 319*f*
pequeno, 24
morfologia de, 26*f*
população de, distinguida pela história de exposição a antígeno, 23–27
repouso, 24
sinalização de inibição em, 169, 169*f*
subpopulações de, geração de, 197–198, 197*f*
T, *Ver* Célula(s) T
Linfócitos alorreativos, 374

Linfócitos B
com limitada diversidade de receptor de antígeno, 78–79
funções de, 21
imunodeficiências, características de, 460*t*
migração de, 53–55, 54*f*
na imunidade humoral, 10
organização anatômica de, 33–35
segregação de, 33*f*, 35
subpopulações de, 21, 22*t*
zona marginal, 22*t*
Linfócitos B *naive*, Ig de membrana expressa por, 27
Linfócitos de memória, 26–27, 27*f*
características de, 25*t*
Linfócitos em repouso, 24
Linfócitos grandes, 24
morfologia de, 26*f*
Linfócitos *naive*, 24–25, 25*t*, 27*f*
Linfócitos intestinais, propriedades de *homing* de, 307*f*
Linfócitos(s) efetor(es), 25–26, 25*t*
Linfócitos T, 4, 6, 10
ativação de, 209–223
adjuvantes em, 213
alterações nas moléculas de superfície durante, 216–217, 217*f*
CD40-ligante em, 215–216, 216*f*
papel da coestimulação em, 212–215, 212*f*
sinais para, 211–215

visão geral, 209–211, 210*f*
células T de memória, 211
desenvolvimento de, 220–222, 221*f*
propriedades de, 221–222
células T efetoras, 211
diferenciação de células T ativadas em, 220
citocinas e, 217–220
citotóxico, 10
com limitada diversidade de antígeno do receptor, 78–79
defeitos em, ativação e função, 471–473
expansão clonal de, 220, 220*f*
funções de, 21
imunodeficiências, características de, 460*t*
maturação de, no timo, 28–30
na resposta imune a tumores, 402–404
organização anatômica de, 33–35
respostas de
declínio de, 222
funcional, 216–222
secreção/expressão do receptor de interleucina-2 (IL-2) e, 217–218, 218*f*
segregação de, 33*f*, 35
subpopulações de, 21–23, 22*t*
γδ, 22*t*
Linfócitos T alorreativos, ativação de, 379–380, 380*f*
coestimulação nas respostas de célula T a aloantígenos em, 380–381

funções efetoras, de células T alorreativas e, 380*f*, 381
reação mista de linfócito em, 380, 380*f*
Linfócitos T auxiliares $CD4^+$, 22*t*
Linfócitos T citotóxicos $CD8^+$ (CTLs), 22*t*, 402, 403*f*
ativação de, reconhecimento de antígeno, 247, 248*f*
citotoxicidade mediada por, mecanismos de, 246–249, 247*f*
diferenciação de células T $CD8^+$ em, 243–246, 244*f*
funções efetoras de, 246–249
killing de células-alvo por, 247–249, 249*f*
papel de, há defesa do hospedeiro, 249–250
Linfócitos T citotóxicos (CTLs), 10, 13–14, 211
doenças causadas por, 427–428
e infecções virais, 363
lesão tecidual por, 363–364
Linfócitos T *naive*, ativação de, 209
Linfócitos T intraepiteliais, 73
Linfo-histiocitose hemofagocítica, 250
Linfoma, MALT, respostas imunes no intestino e, 315
Linfomas MALT, respostas imunes no intestino e, 315
Linfonodo(s), 32–35, 32*f*
microanatomia de, 34*f*
migração de células T *naive* para, 47–49, 49*f*
reação no centro germinativo em, 262*f*
saída de células T do, 51–52, 51*f*
transporte de antígeno por, 35
Linfopoetina estromal tímica (TSLP), 307–308, 519

Linfotoxina(s), 34–35, 83–84
Linfotoxina-α (LTα), 519
Linfotozina-$\alpha\beta$ (LT$\alpha\beta$), 519
Linha de célula-tronco embrionária (CTE), 541
Linhagem de célula B, comprometimento com, 180–181, 181*f*
Linhagem de célula T, comprometimento com, 180–181, 181*f*
Linhagens alogênicas, de camundongo, 123
Lipid rafts, na sinapse imunológica, formação de, 158
Lipopolissacarídeo (LPS), 354
Lisina-63, 175
Lisossomos, 14–15
  digestão proteolítica de, 137
  marcação de antígenos proteicos para, 136–137
Listeria monocytogenes, 353*t*–354*t*
  imunidade celular a, 226, 228*f*
  NOD e, 66, 76
Listeriolisina, 134
LMP1, EBV, 259–260
Loci do gene *TCR*, organização da linhagem germinativa de, 184, 186*f*
L-selectina (CD62L), no recrutamento de leucócito, 41*t*, 42
Lúpus eritematoso sistêmico (LES), 423–424, 430
  novas terapias para, 430
  patogênese de, 430, 431*f*

M

Mac-1 (CD11bCD18), 41*t*, 42, 290, 291*t*

Macrófago(s), 15*t*
ativação de, 17
alternativa, por células Th2, 236–237, 237*f*
clássica, 232, 232*f*, 237*f*
por bactérias extracelulares, 355
por bactérias intracelulares, 359
por células Th1, 233–234, 233*f*
por parasitas, 367, 367*f*
ativado, 88, 89*f*
funções de, 119*f*, 120*t*
na apresentação de antígeno, 123
na infecção por HIV, 482
na lâmina própria, na imunidade inata no intestino, 303
na resposta imune a tumores, 404
no sistema imune gastrintestinal, 310–311
MAC, *Ver* Complexo de ataque à membrana (MAC)
MadCAM-1 (molécula adressina de adesão celular da mucosa 1), 48
Malária, 367
Mamífero-alvo de rapamicina (mTOR), 388
Marcadores fenotípicos
anticorpos monoclonais para, 106
de células T reguladoras, 334
Marcadores, fenotípicos, 13–14
Marenostrina, *Ver* Pirina
MASP1 (serina protease associada à manose 1, ou serina protease associada à lectina ligante de manana), 80

MASP2 (serina protease associada à manose 2, ou serina protease associada à lectina ligante de manana), 80
Mastócito(s), 14*f*, 79
ativação de
induzida por antígeno, com especificidade para antígeno único, 544
populações de célula B policlonais, 544
degranulação de, 444–445
em respostas imunes inatas e adaptativas, 18
ligação de IgE a, 442–443
mediadores derivados de, 445–448, 446*f*
mediadores produzidos por, 442*t*
morfologia de, 441*f*
mucosa, 441
propriedades de, 440–448, 441*t*
reação de pápula e eritema dependente de, 449
reações imunes mediadas por, papel protetor de, 455–456
sensibilização de, 438
tecido conectivo, 441
Maturação da célula T, 199–205
células T $\alpha\beta$ MHC-restritas, processo de seleção em, 203–205
estágios de, 199*f*, 200–203
imunodeficiência causada por defeitos em, 466*f*
timo em, 199*f*, 200
Maturação por afinidade
células T auxiliares em, 10
em mutação somática, de genes *Ig*, 266–269, 267*f*

na resposta imune humoral, 251–253
no reconhecimento de antígeno, 113–114, 114*f*
MD2 (proteína de diferenciação mieloide 2), TLRs e, 64
Mediador lipídico
derivado de mastócitos, 446*f*, 447–448
produção de, a partir da ativação de mastócito, 445
Medula óssea
anatomia e funções de, 28
leucemia envolvendo, 474*t*
Meio HAT, 107*f*
Memória
imunológica, 5
nas respostas imunes adaptativas, 4*f*, 5
Memória imunológica, 5
Metabolismo de nucleotídeo, defeitos em, 464–467
M-ficolina, na ativação do complemento, 287–288, 289*t*
MHC, *Ver* Complexo principal de histocompatibilidade (MHC)
Miastenia grave, 421*t*
Micobactéria, atípica, 463
Micofenolato de mofetil (MMF), para rejeição de enxerto, 388
Microbioma
autoimunidade e, 347–348
comensal, na imunorregulação, 313
Microbioma comensal, papel de, na imunorregulação, 313
Microdomínios enriquecidos com glicolipídeos, na sinapse imunológica, formação de, 158

Microglia, 320–321
β_2-microglobulina, 129–130, 129*f*
Microrganismos fagocitados, *killing* de, por células Th1, 233–234
Microrganismos patogênicos, 353*t*–354*t*
Microrganismos patogênicos, no sistema gastrintestinal, 301
Microrganismos, *Ver também* Bactérias, Fungos, Parasita(s), Vírus
exposição inicial a, risco de alergia e, 451–452
imunidade a, 351–372
ingesta e *killing* de, por fagócitos ativados, 59–62, 87*f*
intracelular, eliminação de, na imunidade celular, 10
na diferenciação de subpopulação de célula T, 230–231
neutralização de, 277, 278*f*
patogênica, 353*t*–354*t*
patogenicidade de, 352
reação contra, causando doenças de hipersensibilidade, 417–418
reconhecimento de, pelo sistema imune, 87–88
respostas imunes a, 352*f*
visão geral de, 351–354
respostas imunes mediadas por células em, 226
sobrevida de, 352
MicroRNAs (miRNAs)
na ativação da célula T, 164
no desenvolvimento de linfócitos, 181–182
Mieloma, estrutura do gene *Ig* no, 183–184
Migração, leucócito, 39, *Ver também* Migração/recrutamento de leucócito

Migração/recrutamento de leucócito, 39
do sangue para os tecidos, principais funções atendidas por, 40*f*
moléculas de adesão em, 41–42, 41*t*
nos tecidos, mediação de interações leucócito-endotélio, 45–46, 46*f*
para o sítio de infecção
na resposta inflamatória, 86–87, 86*f*
ou dano tecidual, 45
princípios que governam, 39–41
quimiocinas e receptores de quimiocina em, 43–45
visão geral de, 39–41
Migração transcelular, 45–46
Mimetismo molecular, 347
Modulação de CD366 (receptor celular do vírus da hepatite A 2), 523
Molécula de sinalização de ativação linfocítica (SLAM), 165
Moléculas CD, principais características de, 523
Moléculas de adesão leucócito-endotélio
integrinas e integrina-ligantes como, 41*t*, 42, 43*f*
selectinas selectina-ligantes como, 41–42, 41*t*
Moléculas de adesão, na ativação de células T, 216–217
Moléculas de histocompatibilidade, 374–375
Moléculas de reconhecimento associadas à célula, 60
Moléculas do complexo principal de histocompatibilidade (MHC), 128–131, 376
alelos de, compatibilidade de, na sobrevida, 386, 386*f*
aloantígenos, reconhecimento de
direto, 377*f*, 378–379

indireto, 377*f*, 379
classe I, 127, 129–130
características de, 129*t*
com peptídeos ligados
expressão de superfície de, 136
estrutura de, 129*f*
ligação do TCR, 153*f*
para processamento e apresentação de antígenos proteicos, 133*f*, 134–136, 134*t*, 135*f*
resíduos polimórficos de, 129–130, 130*f*
classe II, 127–128, 130–131
biossíntese e transporte de, para os endossomos, 138
características de, 129*t*
com peptídeos ligados, expressão de superfície de, 139
em vesículas, associação de peptídeos processados com, 138–139
estrutura de, 130*f*
para processamento e apresentação de antígenos proteicos, 133*f*, 134*t*, 136–139, 137*f*
resíduos polimórficos de, 130–131, 130*f*
em reações de rejeição forte (rápida), 376
expressão, 127, 128*f*
funções de, 117–144
ligação de peptídeo a, 131–133, 132*f*
base estrutural, 132–133
no retículo endoplasmático, 136
propriedades gerais de, 128–129
Moléculas efetoras solúveis de imunidade inata, 79–82, 80*f*–81*f*

colectinas, 81–82, 81*f*
ficolinas, 81–82
pentraxinas, 80–81
sistema complemento, 79–80
Moléculas pró-inflamatórias, na vacinação tumoral, 409
Monócito(s)
clássica, 15–17
contagens normais em, 14*t*
desenvolvimento de, 15–17
migração para sítios de infecção ou lesão tecidual, 46–47
subpopulações de, 15–17
Monócitos clássicos, 15–17
Morte por negligência, 201*f*, 204
Motivo de troca com base na tirosina do imunorreceptor (ITSM), 165
Motivos de ativação com base na tirosina do imunorreceptor (ITAMs), 72, 76*f*, 78, 150
uso de, progressivo, 151
Motivos inibidores com base na tirosina do imunorreceptor (ITIMs), 76*f*–77*f*, 78, 150, 272–273
Mucinas, 73
na imunidade inata no intestino, 302–303
Muco, 73
Mucosa intestinal, células T efetoras e reguladoras em, 311*f*
Multivalência, 110
Muramil dipeptídeo, 66
Mutação no gene da *adenilato quinase 2* (AK2), 467
"Mutações condutoras", 399

Mutações de gene único, causadoras de autoimunidade, 346, 346*t*
"Mutações passageiro", 399
Mutações somáticas, em genes *Ig V*, 266, 267*f*
Mycobacterium leprae, 353*t*–354*t*
Mycobacterium tuberculosis, 353*t*–354*t*
MyD88, 65–66

N

Não progressores a longo prazo, com HIV, 485
Não reatividade ao próprio (autotolerância), em respostas imunes adaptativas, 5
Nefelometria automatizada, 545
Neisseria meningitidis, 353*t*–354*t*
Neoantígenos, 399, 400*f*
"Neoantígenos clonais", 399
Neoplasias, *Ver* Tumor(es)
Neutrófilo(s), 14–15, 14*f*, 14*t*–15*t*
  ativação de, por bactérias extracelulares, 355
  migração para sítios de infecção ou lesão tecidual, 46–47
Nimotuzumabe, 413*t*
Nível de CH50, 545
Nivolumabe, 413*t*
NKG2D, 77
NKT invariável (iNKT), 240–241
NLRA, 67*f*
NLRB, 66, 67*f*

NLRC, 66, 67*f*
NLRP, 66, 67*f*
NOD1, 66
NOD2, 66
  doenças autoimunes e, 344, 345*t*
Nucleotídeos N, 191–192, 192*f*
Nucleotídeos P, 191–192, 192*f*

O

Ofatumumabe, 413*t*
Olho, imunoprivilégio em, 320
Oncostatina M, 519
Opsoninas, 17, 79, 277–278
Opsonização
  ativação do complemento e, 293–294, 295*f*
  mediada por anticorpo, 277–281, 419–420, 420*f*
Opsonização mediada por anticorpo, 277–281, 280*f*
Organismos comensais, intestinais, 313
Órgãos linfoides centrais, 326–327
Órgãos linfoides geradores, 23
Órgãos linfoides, secundários, centros germinativos, 261*f*
Osteoprotegrina (OPG), 519
Óxido nítrico, molécula microbicidas e, 88
Óxido nítrico sintase induzível (iNOS), 88

P

P13-quinase, ativação de, na ativação da célula T, 213–214
Padrões moleculares associados a dano (DAMPs), 60, 60*t*
receptores citosólicos para, 66–71
Padrões moleculares associados a patógeno (PAMPs), 59–60, 60*t*, 303
na imunidade inata no intestino, 303
receptores citosólicos para, 66–71
Panitumumabe, 413*t*
Pápula, 448–449
Paracórtex, 32
Parasita(s)
imunidade a, 366–368
imunidade adaptativa a, 366–368, 367*f*
imunidade inata a, 366
imunoevasão por, 368, 368*t*
respostas imunes para, 366*t*
inibição por, 368
Parasitas helmínticos, erradicação de, reações imunes iniciadas por IgE em, 455
Pares ligante-receptor, envolvidos na ativação da célula T, 155*f*
PD-1 (*programmed death* 1), 169–170, 215
regulação das respostas de célula T, 331–332, 333*t*
Peças de cauda, nas formas secretadas de cadeias pesadas de Ig, 105, 105*f*
Pele
linfócitos, propriedades de *homing* de, 319*f*
respostas imunes em
doenças relacionadas, 318–320

inata e adaptativa, 316–318
respostas imunes inata e adaptativa em, 316–318
Pembrolizumabe, 413*t*
Pênfigo vulgar, 421*t*
Pentraxina longa PTX3, 80–81
Pentraxinas, 61*f*, 80–81
Peptídeo Ii associado à classe II (CLIP), 138, 138*f*
Peptídeos, barreiras epiteliais e, 73
Pequenos linfócitos, 24
morfologia de, 26*f*
Perforina, 75–76
funções de, 248
Peroxidase de raiz forte, 537–538
PI3-quinase, ativação de, na célula T ativação, 156, 158*f*
Pilina, 356–357
Pirina, 69
Pirógenos endógenos, 88–89
Piroptose, 70
Plasmablastos, 26, 54–55, 269
Plasmacitoma, estrutura do gene *Ig* em, 183–184
Plasmócitos, 26, 26*f*
intestinal, secretora de IgA, 308*f*
secretor de anticorpo, diferenciação da célula B em, 269–270, 269*f*
Plasmócitos secretores de anticorpo, diferenciação da célula B em, 269–270
Pneumocystis jiroveci, 353*t*–354*t*, 361

Poliarterite nodosa, 423–424, 424*t*
Polimerização, tipo príon, 149
Polimerização tipo príon, 149
Polimorfismos, 124
  associados com autoimunidade, 344–346, 345*t*
Pólio, 353*t*–354*t*
Polivalência, 110
Ponto de controle pré-TCR defeituoso, 465*t*
Pontos de controle, no desenvolvimento de linfócito, 182, 183*f*
Pós-glomerulonefrite estreptocócica, 423–424, 424*t*
Poxvírus, 365
Pré-célula B, 108–109, 108*f*
Pré-Tα, 196*f*, 201–203
Pró-célula B, 193–194, 194*f*
Processamento antigênico, 133–141
  via do MHC de classe I de, 133*f*, 134–136, 134*t*, 135*f*
  via do MHC de classe II de, 133*f*, 134*t*, 136–139, 137*f*
  vírus inibidores de, mecanismos de, 364–365, 365*f*
Progenitores mieloide-megacariócito-eritroide, 28
Progenitor mieloide-linfoide, 28
Properdina, 285
Propriedades do *homing*, de linfócitos intestinais, 307*f*
Prostaglandina D2 (PGD_2), derivada de mastócitos, 446*f*, 447
Proteína 4 associada ao linfócito T citotóxico (CTLA-4), 406
Proteína argonauta, 164
Proteína C1, 285

estrutura de, 287*f*
ligação de, às porções Fc de IgM e IgG, 288*f*
Proteína C1q, 285, 286*t*
Proteína C1r, 286*t*
Proteína C1s, 286*t*
Proteína C2, 286*t*
Proteína C3
estrutura e função de, 285*t*–286*t*
ligações tioéster internas de, 286*f*
Proteína cofator de membrana (MCP), 292*t*
Proteína C-reativa (CRP), 80–81
Proteína da morte celular programada (PD-1), 406
Proteína de diferenciação mieloide 2 (MD2), TLRs e, 64
Proteína de sinalização antiviral mitocondrial (MAVS), 68
Proteína de surfactante A (SP-A), 81–82
Proteína de surfactante D (SP-D), 81–82
Proteína do antígeno carcinoembrionário (CEA, CD66), 402
Proteína inibidora de complemento do vírus da vacínia 1 (VCP-1), 297
Proteína ligante de C4 (C4BP), 292*t*
Proteína ligante de célula B (BLNK), 168–169
Proteína ligante de FK506 (FKBP), 161–163
Proteína ligante (PL), em cadeias leves e pesadas de Ig, 107–108
Proteína quinase ativada por estresse (SAP), 160–161
Proteína regeneradora ilhota-derivada III (REG III), 303
Proteínas

identificação e purificação de, 533
sinalização modular, 148–149, 149*f*
Proteínas adaptadoras
na ativação de linfócito, 148–149, 149*f*
recrutamento e modificação de, 156–158
Proteínas celulares superexpressas, 399–401, 401*f*
Proteínas citosólicas
digestão proteossômica de, 135–136
montagem do complexo peptídeo-MHC de classe I no retículo endoplasmático e, 136
processamento e apresentação, 134–136, 134*t*
transporte de peptídeos de, para o retículo endoplasmático, 136
Proteínas de antígeno associado ao melanoma (MAGE), 400
Proteínas do choque térmico (HSPs), TLRs e, 64
Proteínas do complemento, 282
da via alternativa do complemento, 285*t*
da via clássica do complemento, 286*t*
da via da lectina do complemento, 289*t*
receptores para, 288–290, 291*t*
Proteínas do grupo de alta mobilidade box 1 (HMGB1), TLRs e, 64
Proteínas do TCR, domínios de, 185*f*
Proteínas G, 72
Proteínas Ig, domínios de, 185*f*
Proteína SLAM-associada (SAP), 165
mutações codificadoras em, 473
Proteínas quinases, na transdução de sinal, 146

Proteínas sinalizadoras
degradação de, ubiquitina-dependente, 170, 171*f*
modular, 148–149
Proteínas tirosina fosfatases, sinalização na célula T por, modulação de, 164
Proteínas tirosina quinases, na transdução de sinal, 146
Proteínas Wnt, 148
Proteína Tat, na patogênese da imunodeficiência por HIV, 479
Proteoglicanas, derivadas de mastócitos, 447
Proteossomos
degradação de antígenos proteicos em, 134–135
na digestão de proteínas citosólicas, 135–136
P-selectina (CD62P), no recrutamento de leucócitos, 41–42, 41*t*
Pseudogota, 70
Psoríase, 318–319, 425*t*
PTPN22, doença autoimune e, 344, 345*t*
Púrpura trombocitopênica, autoimune, 421*t*
Púrpura trombocitopênica autoimune, 421*t*
Queratinócitos, 73, 316
Quimase, 447
Quimerismo hematopoiético, para induzir tolerância doador-específica, 390
Quimiocina(s), 34, 43–45
ações biológicas de, 44–45
afinidade aumentada de integrinas mediadas por, 42
estrutura, produção e receptores de, 43–44, 44*t*
reações inflamatórias, papel em, 44–45

Quimiocinas C, 44*t*
Quimiocinas CC, 43, 44*t*
Quimiocinas CX3C, 43, 44*t*
Quimiocinas CXC, 43, 44*t*
Quimiotaxia, 45
Quinase(s) lipídica(s)
  ativação de, durante a ativação da célula T, 156, 157*f*
  na transdução de sinal, 146

R

Radioimunoensaio (RIA), 531–533, 532*f*
Raiva, 353*t*–354*t*
Ramo humoral, da imunidade inata, 79
Rapamicina (Sirolimus), na rejeição de aloenxerto, 388
Reação cruzada, 113
Reação de Arthus, 423
Reação de fase tardia, 437, 449*f*
  eosinófilos em, 448
    mediadores produzidos por, 442*t*
    morfologia de, 441*f*
    propriedades de, 441*t*, 448
  reações imediatas e, 449–450, 449*f*
Reação de pápula e eritema, 448–449, 450*f*
Reação do centro germinativo, 260–261
  no linfonodo, 262*f*
Reação imediata, de alergia, 448–449, 449*f*–450*f*

Reação mista de linfócito (RML), 125–127, 380, 380*f*
Reações alérgicas
basófilos em
ligação de IgE a, 442–443
mediadores produzidos por, 442*t*
morfologia de, 441*f*
propriedades de, 440–448, 441*t*
células Th2 em, 440
dependente de IgE, 448–450, *Ver também* Reações alérgicas dependentes de IgE
eosinófilos em, 448
mediadores produzidos por, 442*t*
morfologia de, 441*f*
propriedades de, 441*t*, 448
mastócitos em
ativação de, 443–445, 443*f*–444*f*
ligação de IgE a, 442–443
mediadores derivados de, 445–448, 446*f*
mediadores produzidos por, 442*t*
morfologia de, 441*f*
propriedades de, 440–448, 441*t*
Reações alérgicas dependentes de IgE, 448–450, 449*f*
sequência de eventos em, 438, 438*f*
visão geral de, 438–439, 438*f*
Reações de hipersensibilidade imediata, 448–449, 449*f*
patogênese e terapia de, 453–455

reação de fase tardia e, 450
sequência de eventos em, 438, 438*f*
Reações imunes
mediada por IgE, papel protetor de, 455–456
mediada por mastócito, papel protetor de, 455–456
Reações transfusionais, 391
Reagentes de fase aguda, 81
Reagentes imunomagnéticos, 537
Receptor, 373
Receptor C1q, 79, 81*f*
Receptor de célula B (BCR)
iniciação de sinal por, 165–166, 167*f*
para antígeno, estrutura de, 165
vias de sinalização após, 168–169
Receptor de célula T (TCR)
defeitos na transdução de sinal, 471–472
genes para, expressão de, 199–200
iniciação de sinal por, 153–154
ligação de, ao complexo peptídeo-MHC, 153*f*
para antígeno, estrutura de, 151–153, 152*f*, 154*f*–155*f*
propriedades de, 152*t*
Receptor de complemento
da família de imunoglobulinas (CRIg), 290
tipo 1, 288–289, 291*t*
tipo 2, 289–290, 291*t*
tipo 3, 290, 291*t*

tipo 4, 290, 291*t*
Receptor de complemento CR2/CD21, como correceptor, para células B, 166–167
Receptor de complemento tipo 2, na ativação da célula B, 255, 255*f*
Receptor de esfingosina 1-fosfato 1 (S1PR1), 51, 51*f*
Receptor de interleucina-23 (IL-23R), doenças autoimunes e, 344, 345*t*
Receptor de interleucina-2 (CD25), antagonistas de, 429*t*
Receptor de interleucina-6 (IL-6), antagonistas de, 429*t*
para artrite reumatoide, 432
Receptor de manose (CD206), 71–72, 71*t*
Receptor de morte, de apoptose, 336–337, 337*f*
Receptor de pré-célula B (pré-BCR), 195, 196*f*
defeitos de ponto de controle, autossômicos recessivos, 469
Receptor de pré-célula T (pré-TCR), 196*f*, 201–203
defeitos de sinalização de ponto de controle, 467–468
Receptor(es)
célula B, *Ver* Receptor de célula B (BCR)
célula T, *Ver* Receptor de célula T (TCR)
poli-Ig, no transporte de IgA, 308
superfície celular, sinalização de, 146, 146*f*
Receptores acoplados à proteína G (GPCRs), 148
Receptores antigênicos, 98*t*
Receptores celulares, categorias de, 147–148, 147*f*
Receptores citosólicos, para padrões moleculares associados a patógenos e padrões moleculares associados a dano, 66–71
Receptores coestimuladores, 151

família da molécula de sinalização de ativação linfocítica/CD2 de, 165
família de CD28 de, 164–165
Receptores com sete alças transmembrana, para sinalização, 148
Receptores de ativação, de células *natural killer* (NK), 76–78, 76*f*
estrutura e ligantes de, 77*f*
funções de, 75*f*
Receptores de célula T no timócito (TCRs), 328
Receptores de citocina
classes de, 170–173, 172*f*
sinalização e, 170–177
Receptores de formil-peptídeo, 72
Receptores de hormônio nucleares, para sinalização, 147–148
Receptores de lectina tipo C (CLRs), 61*f*, 71–72, 71*t*, 77
Receptores de N-Formil met-leu-fe, 61*f*
Receptores de quimiocina
na ativação da célula T, 216–217
para HIV, 478
Receptores de quimiocina CXC, para HIV, 478
Receptores de reconhecimento de padrão, 60, 62*f*
célula-associado, 62–72, *Ver também* Receptores de reconhecimento de padrão associados à célula
localizações celulares de, 62*f*
Receptores de reconhecimento de padrão associados à célula, 62–72
padrões moleculares associados a patógeno e padrões moleculares associados a dano, receptores citosólicos para, 66–71
para carboidratos, 71–72

receptores do tipo *Toll* (TLRs), 63–66, *Ver também* Receptores do tipo *Toll* (TLRs)
receptores *scavenger*, 72
Receptor(es) de superfície celular, sinalização de, 146, 146*f*
no desenvolvimento de linfócito, 180
Receptores do tipo imunoglobulina (Ig) de célula *killer* (KIRs), 77
Receptores do tipo *Toll* (TLRs), 58–59, 61*f*, 63–66
especificidades de, 63*f*
estrutura de, 63*f*, 64
localização de, 63*f*, 64
na ativação da célula B, 255*f*, 256
na imunidade inata no intestino, 303
vias de sinalização e funções de, 64–65, 65*f*
Receptores do tipo NOD (domínio de oligomerização de nucleotídeo) (NLRs), 66, 67*f*
Receptores do tipo NOD (NLRs), 61*f*
Receptores do tipo NOD (NLRs), na imunidade inata no intestino, 303
Receptores do tipo RIG (*retinoic acid-inducible gene)* (RLRs), 68
Receptores do tipo RIG (RLRs), 61*f*
Receptores Fc
leucócito, 278–281, 279*t*
regulação das respostas imunes humorais por, 272–273, 272*f*
Receptores Fcγ, 278
Receptor(es) inibidores
de células *natural killer* (NK), 76–78, 76*f*
citocinas e, 78

funções de, 75–76, 75*f*
ligantes e, 77, 77*f*
moléculas do MHC de classe I e, 77*f*, 78
motivos estruturais em, 76*f*–77*f*, 78
receptores ativadores e inibidores de, 76–78, 76*f*
modulação da sinalização por, 151
na regulação das respostas de células T, 330–332
sinalização por, na tolerância de célula B periférica, 340
Receptores *scavenger*, 61*f*, 72
Receptores nucleares, para sinalização, 147–148
Receptores sinalizadores, categorias de, 147*f*
Receptores tirosina quinases (RTKs), para sinalização, 147
Receptor Fc neonatal (FcRn), 109–110, 109*f*
Receptor Fcε, na ligação de IgE, 442–443, 443*f*
Receptor poli-Ig, no transporte de IgA, 308
Recirculação de linfócito, 47
Recombinação homóloga, 539–541
Recombinação por troca, na troca de isotipo, 264
Recombinação V(D)J, 183, 186–191, 187*f*
defeitos, nas imunodeficiências combinadas graves a partir de, 467–468
eventos sequenciais durante, 190*f*
mecanismos de, 189–191, 190*f*
sinais de reconhecimento em, 187–189, 188*f*–189*f*
Reconhecimento de aloantígeno
direto, 378–379, 378*f*

indireto, 379
por células T, 377–379, 377*f*
Reconhecimento de antígeno, 113–114, 254–256
ativação de linfócitos T citotóxicos e, 247, 248*f*
diversidade de, 113
especificidade em, 113
maturação de afinidade em, 113–114, 114*f*
reconhecimento de, ativação de célula T e, 209–212, 210*f*
Reconhecimento direto, de aloantígenos, 377, 377*f*
Reconhecimento indireto, de aloantígenos, 377, 377*f*
Recrutamento, leucócito, 39, *Ver também* Migração/recrutamento de leucócito
Região da dobradiça, em anticorpos, 104
Região determinante de complementaridade 3 (CDR3), 185
Região Fc, 77–78
Regiões constantes, de anticorpo, 103–106, 105*f*
Regiões determinantes de complementaridade (CDRs), de domínio Ig, 101–102, 103*f*
Regiões hipervariáveis, em moléculas de Ig, 101–102, 102*f*
Regiões variáveis, de anticorpo, 101–103, 102*f*
Regiões V, de domínio Ig, 100
Regulador autoimune (AIRE), 205, 328, 329*f*
Reguladores transcricionais, na determinação do destino de células B ativadas, 270–271
Rejeição
aloenxerto, 373–374, 381–384, *Ver também* Rejeição de aloenxerto
enxerto, 373–374

genética de, 376*f*
Rejeição aguda, 382–383, 383*f*–384*f*
Rejeição anticorpo-mediada aguda, 383, 384*f*
Rejeição celular, aguda, 382–383, 383*f*
Rejeição celular aguda, 382–383, 383*f*
Rejeição crônica, vasculopatia do enxerto e, 384, 385*f*
Rejeição de aloenxerto, 381–384
aguda, 382–383
crônica, 384, 385*f*
hiperaguda, 381–382, 382*f*
padrões e mecanismos de, 381–384
prevenção e tratamento de, 384–391
imunossupressão em, 387–390
vasculopatia do enxerto em, 384
Rejeição de enxerto, 373–374, 376*f*
aguda, 382–383
aloenxerto, 373–374, 381–384
célula aguda, 382–383, 383*f*
hiperaguda, 381–382, 382*f*
mediada por anticorpo aguda, 383
Rejeição de primeira fase, 373–374, 375*f*
Rejeição de segunda fase, 373–374, 375*f*
Rejeição hiperaguda, no transplante xenogênico, 382*f*, 391
Rejeição mediada por anticorpo, aguda, 383, 384*f*
Rejeição tardia de xenoenxerto, 391
Repertório, anticorpo, 113

Repertório de linfócito, 4–5
Repetições palindrômicas curtas agrupadas regularmente interespaçadas (CRISPR)
sistema da nuclease CRISPR-associada 9 (Cas9), 542
Resposta da célula B extrafolicular, 260*t*
Resposta de célula B do centro germinativo, 260*t*
Resposta de fase aguda, 81
Resposta de linfócito B, métodos para estudo de, 544
ativação de
induzida por antígeno, com especificidade para antígeno único, 544
populações de célula B policlonais, 544
proliferação de célula B e produção de anticorpo, e ensaios para, 544
Resposta de linfócito T, métodos de estudo, 542–544
ativação antígeno-induzida de
com especificidade para antígeno único, 542–543
populações policlonais, 542
ativação policlonal como, 542
respostas funcionais de, métodos para enumerar e estudar, 543–544
Resposta(s) da célula T
a aloantígenos, coestimulação em, 380–381
a microrganismos intracelulares, 359–360
natureza de, 140, 140*f*
regulação de, por receptores de inibição, 330–332
Respostas de anticorpo, 251–253, 252*f*

a antígenos de HIV, 484–485
a antígenos proteicos, dependente de células T auxiliares, 256–271
dependente de células T auxiliares, sequência de eventos durante, 256, 257*f*
T-independente
mecanismos de, 271–272
proteção mediada por, 272
Resposta(s) de célula B
centro germinativo, 260*t*
extrafolicular, 260*t*
Resposta(s) imune(s)
adaptativa, na pele, 316–318
a infecções virais, 364
alças de *feedback* positivo reguladoras, 3
a microrganismos, 352*f*
visão geral de, 351–354
ao HIV, 484–485
a parasitas, 366*t*
a tumores, 402–405, 403*f*
anticorpos em, 404
células *natural killer* (NK) em, 404
crescimento de, 398–399
evasão de, 405–407, 406*f*
imunidade adaptativa em, 404–405, 405*f*
imunidade inata em, 404–405, 405*f*
inibição de, 406–407

linfócitos T em, 402–404
macrófagos em, 404
imunidade inata e adaptativa, 2–3
inibição de
e parasitas, 368
e vírus, 365
na pele, doenças relacionadas a, 318–320
no intestino, doenças relacionadas com, 313–315
os efeitos lesivos de bactérias extracelulares da, 356, 357*f*
propriedades e visão geral de, 1–11
tipo 2, 438
Resposta(s) imune(s) adaptativa(s)
a aloenxertos, 374–381
ao HIV, 484
baço na, 355–356
captura e apresentação de antígenos microbianos em, 8–9
características cardinais de, 4–5
desenvolvimento de, 8–10, 9*f*
especificidade, memória e contração de, 4*f*
imunidade celular em, 5–8
imunidade humoral em, 10
iniciação de, 8–10
memória imunológica em, 5
na pele, 316–320
no sistema gastrintestinal, 304
reconhecimento de antígeno por linfócitos em, 7*f*

rejeição de enxerto devido a, 373–374, 375*f*
respostas imunes inatas estimuladoras de, 58
tipos de, 5–6, 6*f*
tumores estimuladores, 397
Respostas imunes celulares
células T $CD4^+$ em, 225–228, 227*f*–228*f*
HIV-específica, 484
Resposta(s) imune(s) humoral(is)
característica de, elucidada por conjugados hapteno-carreador, 259
fases de, 252*f*
HIV-específica, 484
para respostas de anticorpo dependentes de célula T, sequência de eventos durante, 256, 257*f*
primária e secundária, 253, 253*f*
regulação de, por receptores Fc, 272–273, 272*f*
visão geral, 251–254, 252*f*
Resposta(s) imune(s) inata(s)
funções e reações de, 57–58
na autoimunidade, 342
na pele, 316–318
Respostas(s) inflamatória(s), 82–90
citocinas pró-inflamatórias em, 82–86, 83*t*
consequências sistêmicas e patológicas de, 88–90
fagócitos ativados, ingesta e *killing* de microrganismos por, 87–88, 87*f*
fator de necrose tumoral em, 83–84
interleucina-1 em, 84–85

interleucina-6 em, 85
recrutamento de leucócitos para sítios de infecção em, 86–87, 86*f*
Ressonância de plasmon de superfície, 538
Restrição do MHC, 118–119, 124, 125*f*
Retículo endoplasmático (RE)
aminopeptidase residente (ERAP), 136
montagem do complexo peptídeo-MHC de classe I em, 136
transporte de peptídeo do citosol para, 136
Retinaldeído desidrogenases (RALDH), 306
RE, *Ver* Retículo endoplasmático (RE)
RIG-I, 68
Rinite alérgica, patogênese e terapia de, 453–454
Riquétsia, 353*t*–354*t*
Rituximabe, 413*t*
para doenças imunológicas, 428–429
RNA polimerase 3, 67
RORγt, em células Th17, 238
Ruptura na fita dupla, 465*t*

S

Salmonella typhi, 353*t*–354*t*
SAP (proteína SLAM-associada), 262–263
mutações codificantes em, 473
Schistosoma mansoni, e lesão tecidual, 367–368
SCID ligada ao X, 465*t*, 467
Seio marginal, do baço, 35

Seleção negativa, 327–328, 328*f*
de linfócitos, 183, 201*f*, 203–204
Seleção positiva, de linfócitos, 182–183, 201*f*, 203–204
Selectinas
no recrutamento de leucócitos, 41–42, 41*t*
rolagem de leucócitos sobre o endotélio mediada por, 45
Sensibilidade de contato, 425–426
Sensibilização, 438
a aloantígenos, 379, 380*f*
Sensores de DNA (ácido desoxirribonucleico) citosólico (SDCs), 61*f*, 66–67
Separador de células ativado por fluorescência, 536*f*, 537
Sepse, 90
a partir de resposta imune a bactérias extracelulares, 356
Serglicina, 247–248
Serina proteases associadas à MBL (MASPs), na ativação do complemento, 287–288, 289*t*
Sinalização
imunorreceptor, atenuação de, 169–170, 169*f*
receptor de antígeno, características gerais de, 150–151
Sinalização de célula T defeituosa, 465*t*
Sinalização de dentro para fora, 42
Sinalização de imunorreceptor, atenuação de, 169–170, 169*f*
Sinalização de receptor coestimulador, em células T, 164–165
Sinalização do fator nuclear-κB, defeitos hereditários em, 463
Sinalização do receptor antigênico, características gerais de, 150–151
Sinalização JAK-STAT, 173–175

Sinalossomo, 156–158

Sinalossomo NOD, 66

Sinapse imunológica, 246–247

Sinapse, imunológica, formação de, 158, 159*f*

Sinapse imunológica, formação de, 158, 159*f*

Sinapse, na recombinação V(D)J, 189, 190*f*

Síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS), 475–486, *Ver também* Vírus da imunodeficiência humana (HIV)

  características clínicas de, 482–484, 483*t*

  desenvolvimento de vacina para, 485–486

  epidemiologia de, 482

  patogênese de, 479–482

  tratamento e prevenção de, 485–486

Síndrome da neoplasia-infecção por EBV-deficiências de magnésio-imunodeficiência ligada ao X, 472*t*, 473

Síndrome da resposta inflamatória sistêmica (SIRS), 90

Síndrome de Chédiak-Higashi, 461*t*, 462–463

Síndrome de DiGeorge, 465*t*

  deficiência de célula T na, 30

  devido ao desenvolvimento defeituoso do epitélio tímico, 464

Síndrome de Goodpasture, 421*t*

Síndrome de hiper-IgE (SHIE), 239, 472–473, 472*t*

Síndrome de hiper-IgM ligada ao X, 234, 259–260, 469*t*

Síndrome de Job, 239

Síndrome de Omenn, 467–468

Síndrome de Wiskott-Aldrich, 472, 472*t*

Síndrome do linfócito nu, 128, 468, 472*t*

Síndrome ICF, 469*t*
Síndrome inflamatória sistêmica, 356
Síndrome linfoproliferativa ligada ao X (SLX), 165, 262–263, 472*t*, 473
Síndrome poliendócrina autoimune tipo I (SPAI), 328
Síndromes autoinflamatórias, 70–71
Síndromes de hiper-IgM, 471
Síndromes de linfo-histiocitose hemofagocítica, 473
Síndromes periódicas associadas a criopirina (CAPS), 70–71
Sistema complemento, 79–80, 80*f*, 281–297
  ativação de, *Ver* Ativação do complemento
  deficiências, 296
  efeitos patológicos de, 296–297
  evasão do, 297
  funções do, 293–295, 295*f*
    citólise mediada por complemento em, 294–295, 295*f*
    opsonização e fagocitose em, 293–294, 295*f*
    resposta inflamatória em, estimulação de, 294
Sistema de grupamento de diferenciação (CD)
  para nomeação de moléculas de superfície celular, 13–14
Sistema de recombinação Cre/*loxP*, 541
Sistema genitourinário, imunidade em, 316
Sistema imune cutâneo, 299, 300*t*, 316–320
  componentes celulares de, 317*f*
  doenças relacionadas a, 318–320
  respostas imunes inata e adaptativa na pele, 316–318
Sistema imune inato

componentes celulares de, 72–79, *Ver também* Componentes celulares, do sistema imune inato
moléculas de reconhecimento de padrão de, 61*t*
na resposta antiviral, 90–92
reconhecimento de microrganismos e autolesão por, 59–62
Sistema linfático, anatomia e função de, 30–32, 32*f*
Sistema respiratório, 300*t*
imunidade adaptativa em, 316
imunidade em, 315–316
imunidade inata em, 315–316
Sistema(s) imune(s)
células de, 13–37
cutâneo, 36
defeitos funcionais de, na doença do HIV, 482
de mucosa, 36
gastrintestinal, 301–315, 302*f*, *Ver também* Imunidade do sistema gastrintestinal
tecidos do, 13–37
Sistema(s) imune(s) adaptativo(s)
anatomia funcional do, no trato gastrintestinal, 304–306
componentes do, 3
ligação de antígeno em, 98*t*
Soro, 97–98
Sorologia, 97–98
Staphylococcus aureus, 353*t*–354*t*
STAT3, em células Th17, 238
Streptococcus pyogenes

grupo A, 353*t*–354*t*
pneumococo, 353*t*–354*t*
Subpopulação Th17, de células T CD4$^+$, 237–239
desenvolvimento de, 230–231, 237–238, 238*f*
funções de, 238–239, 239*f*
IL-21 em, 239
IL-22 em, 239
interleucina-17 em, 238–239
na defesa do hospedeiro, 239
propriedades de, 228–230, 229*f*
Subpopulação Th1, de células T CD4$^+$, 231–234
desenvolvimento de, 230–231, 231*f*
funções de, 232–234, 232*f*
ativação clássica de macrófago em, 233–234, 233*f*
interferon-γ, 232
microrganismos fagocitados em, 233–234
outras citocinas Th1, 232–233
propriedades de, 228–230, 229*f*
Subpopulação Th2, de células T CD4$^+$, 234–237
desenvolvimento de, 230–231, 234–235, 234*f*
funções de, 235–237, 235*f*
interleucina-13 em, 236
interleucina-4 em, 235–236
interleucina-5 em, 236
na defesa do hospedeiro, 236–237, 237*f*
propriedades de, 228–230, 229*f*

Substâncias antimicrobianas, na IL-17, 239
Substituição de gene, para imunodeficiências congênitas, 474
Superantígenos, 542
  bacterianos, 356, 357*f*
Superfamília Ig, 100–101, 102*f*
Supressores da sinalização de citocina (SOCS), 175
Suscetibilidade genética
  à doença alérgica, 450–452, 451*t*
  para autoimunidade, 341*f*, 342–343
Suscetibilidade mendeliana à doença micobacteriana (SMDM), 463

T

TACI, 271–272
T-bet, 231, 243
TCR, *Ver* Receptor de célula T (TCR)
TCRγδ, 73
Tecido linfoide associado à mucosa (MALT), 299–300
  linfomas de, respostas imunes no intestino e, 315
Tecido(s)
  diferente, linfócitos em, 300*t*
  imunoprivilegiado, 320–322
Tecidos de mucosa, imunidade em, 315–316
Tecido(s) linfoide(s)
  anatomia e funções de, 27–36
  associado ao intestino, 304
Tecidos linfoides associados ao intestino (GALT), 304

Técnica da imunoperoxidase, 537–538

Técnicas de sanduíche, 538

Técnicas laboratoriais

camundongos transgênicos e genes-alvo, 538–542, 539*f*–540*f*

e ensaios imunológicos, aplicações no diagnóstico clínico de, 544–545

em imunologia, 531–545

para estudar as respostas de linfócito B, 544

ativação de populações de célula B policlonais, 544

ensaios para medir a proliferação de célula B e a produção de anticorpo, 544

na ativação induzida por antígeno de populações de célula B com especificidade para antígeno único, 544

para estudar as respostas de linfócito T, 542–544

ativação induzida por antígeno de populações policlonais de, 542

ativação policlonal como, 542

na ativação induzida por antígeno de populações de célula T com especificidade para antígeno único, 542–543

respostas funcionais de, métodos para enumerar e estudar, 543–544

uso de anticorpos, 531–538

citometria de fluxo como, 534–537, 536*f*

ensaios com beads para citocina como, 537

imunofluorescência e imuno-histoquímica como, 537–538

imunoprecipitação e cromatografia por imunoafinidade, 533, 534*f*

marcação e detecção de antígenos em células e tecidos como, 534
para identificação e purificação de proteínas, 533
purificação de células como, 537
quantificação de interações antígeno-anticorpo como, 538, 538*f*
quantificação de, por imunoensaios, 531–533, 532*f*
Western blotting como, 533, 535*f*
Terapia, anticorpos monoclonais para, 106
Terapia da indução, 389–390
Terapia de citocinas, 414
Terapia do receptor antigênico quimérico (CAR) da célula T, 410–412, 412*f*
Terapias anticitocina, para doenças imunológicas, 428
Terapias indutoras de tolerância, 429
Terminal desoxinucleotidil transferase (TdT), 191–192
Testes de citotoxicidade mediada por complemento, 387
Testículos, imunoprivilégio em, 321
Tetrâmeros peptídeo-MHC, 543
TGF-β, 406
Th17, 72, 356
respostas por, e fungos extracelulares, 361
Timo
anatomia e funções de, 28–30
morfologia e, 31*f*
na maturação da célula T, 199*f*, 200
Timócitos, 30, 200
duplo-negativo, 200–201, 202*f*

duplo-positivo, 199*f*, 201*f*–203*f*, 203
positivo único, 203, 203*f*
seleção negativa de, 203–204, 327–328, 328*f*
seleção positiva de, 203–204
Timócitos duplo-negativos, 200–201, 202*f*
Timócitos duplo-positivos, 199*f*, 201*f*–203*f*, 203
Timócitos positivos individuais, 203, 203*f*
Tirosina quinase 2 (TYK2), 335
Tirosina quinase de Bruton (Btk), 195
Tirosina quinases não receptoras, 147
Tirosinas quinases
ativação de, durante a ativação da célula T, 156, 157*f*
não receptor, 147
receptor, 147
TLRs, *Ver* Receptores do tipo *Toll* (TLRs)
TNF, *Ver* Fator de necrose tumoral (TNF)
Tolerância, 5
central, 183, 204–205, 326*f*, 327
defeituosa, 342
doador-específica, indução de, 390–391
imunológica, 325–350, *Ver também* Tolerância imunológica
induzida por antígenos proteicos estranhos, 340
linfócitos B, 338–340
linfócitos T, 327–338
mucosa, 312
oral, 312–313, 340

periférica, 326*f*, 327
Tolerância central, 183, 204–205, 326*f*, 327
na célula B, 339, 339*f*
na célula T, 327–328, 328*f*
Tolerância da célula T, 327–338
central, 327–328, 328*f*
periférica, 328–338, 330*f*
Tolerância de célula B, 338–340
central, 339, 339*f*
periférica, 339–340, 340*f*
Tolerância de mucosa, 312
Tolerância doador-específica, 390–391
Tolerância imunológica, 325–350
tolerância de linfócito B como, 338–340
tolerância de linfócito T como, 327–338
visão geral sobre, 325–327
Tolerância oral, 312–313, 340
Tolerância periférica, 326*f*, 327
célula B, 339–340, 340*f*
célula T, 328–338, 330*f*
Tolerogenicidade, de autoantígenos, 338, 338*t*
Tolerógeno, 325
Tonsilas, respostas imunes em, 316
Toxina diftérica, 354
Toxinas, 354
microbiana, neutralização de, 277, 278*f*

Toxinas microbianas, neutralização de, 277, 278*f*
Transcitose, 297–298
Transcritos de linhagem germinativa
com AID, mecanismo de, 264–265, 266*f*
na troca de isotipo, 264
Transdução de sinal, 145–178
adaptadores e proteínas sinalizadoras modulares em, 148–149, 149*f*
pelo complexo BCR, 167*f*
TCR, defeitos em, 471–472
visão geral de, 146–149
Transdução de sinal do TCR, defeitos em, 471–472
Transdutores de sinal e ativadores de transcrição (STATs), 173–175
Transfusão, 373
sangue, 391–393
Transfusão sanguínea, grupos de antígenos sanguíneos ABO e Rh, e, 391–393
Transgenes, 539
Transmigração paracelular, 45–46
Transmissão materno-fetal, HIV e, 483
Transplante
célula-tronco hematopoiética, 393–395
transfusão sanguínea como, 391–393
xenogênica, 391
Transplante clínico, 373, 374*f*
Transplante de célula-tronco, hematopoiético, 393–395
complicação imunológica de, 394–395

imunodeficiência após, 395
indicações, métodos e barreiras imunes em, 393–394
Transplante de rim, compatibilidade HLA em, 386
Transplante heterotópico, 373
Transplante ortotópico, 373
Transplantes, imunossupressão para, 474*t*
Transplante xenogênico, 391
Transportador associado ao processamento de antígeno (TAP), 136
Trastuzumabe, 413*t*
Tregs, *Ver* Células T reguladoras
TRIF, 65–66
Triptase, 447
Troca do isotipo de cadeia pesada (classe), 109
mecanismo de, 264, 265*f*
na resposta imune humoral, 251–253, 263–265, 263*f*, 266*f*
Troca, isotipo, *Ver* Troca de isotipo de cadeia pesada (classe)
Tubulite, 382–383
Tumor(es)
antígenos de, 399–402
identificação de, anticorpos monoclonais para, 106
imunidade a, 397–416
imunodeficiências adquiridas de, 475
imunoterapia para, 407–414, 407*f*
inflamação linfocítica associada com, 397, 398*f*
respostas imunes a, 402–405, 403*f*
evasão de, 405–407, 406*f*

visão geral de, 397–399
Tumor induzido por metilcolantreno (MCA), 397–398

U

Ubiquitina ligases, degradação de proteínas sinalizadoras, 170, 171*f*
UNC-93B, 64
Urticária, patogênese e terapia de, 454–455

V

Vacinas
conjugada, 270, 369–370, 369*t*
contra HIV, desenvolvimento de, 486
estratégias para o desenvolvimento de, 368–371, 369*t*
oral, 312–313
respostas a, 545
vacinas atenuadas, 369, 369*t*
vacinas bacterianas inativadas, 369
vacinas com antígeno purificado (subunidade), 369–370, 369*t*
vacinas com antígeno sintético, 369*t*, 370
vacinas de DNA, 369*t*, 370
vacinas virais, 369
vacinas virais vivas, envolvendo vírus recombinantes, 369*t*, 370
Vacinas atenuadas, 369, 369*t*
Vacinas bacterianas, atenuada e inativada, 369, 369*t*
Vacinas bacterianas inativadas, 369, 369*t*
Vacinas com antígenos sintéticos, 369*t*, 370

Vacinas com antígeno (subunidade) purificado, 369–370, 369*t*

Vacinas conjugadas, 270, 369–370, 369*t*

Vacinas de célula dendrítica (DC), na vacinação antitumoral, 409, 411*f*

Vacinas de DNA, 369*t*, 370

na vacinação antitumoral, 409

Vacinas orais, 312–313

Vacinas virais, 369

Vacinas virais vivas, envolvendo vírus recombinante, 369*t*, 370

Valência, de interações anticorpo-antígeno, 112*f*

Variação antigênica, 364, 365*f*

Vasculite, causada por ANCA, 421*t*

Vasculopatia do enxerto, rejeição crônica e, 384, 385*f*

Vasculopatia, enxerto, e rejeição crônica, 384, 385*f*

VCAM-1 (CD106), 42

V(D)J recombinase, 189–190

Veneno, cobra e inseto, destruição de, proteases derivadas de mastócito em, 456

Veneno de cobra, destruição de, proteases derivadas de mastócito em, 456

Veneno de inseto, destruição de, proteases derivadas de mastócitos em, 456

Vênulas endoleiais altas (HEVs), 33–34, 34*f*, 42, 49*f*

Via alternativa, de ativação do complemento, 79–80, 282–285, 284*f*, 285*t*

Via canônica, 175, 176*f*

Via clássica de ativação do complemento, 285–287, 286*t*, 287*f*–288*f*

Via clássica, sistema complemento e, 77*f*, 79

Via da proteína de ativação 1 (AP-1), 64–65

Via de Ras, 158–160

Via de Ras-MAP quinase

na ativação da célula B, 168

na ativação da célula T, 160*f*

Via do fator de resposta ao interferon 3 (IRF3), 64–65

Via do fator de resposta ao interferon 7 (IRF7), 64–65

Via do MHC de classe II, para processamento a apresentação de antígenos proteicos, 133*f*, 134*t*, 136–139, 137*f*

Via do MHC de classe I, para processamento a apresentação de antígenos proteicos, 133*f*, 134–136, 134*t*, 135*f*

Via dos genes de estimulador de interferons (STING), 66–67, 68*f*

Via extrínseca, de apoptose, 336–337, 337*f*

Via IL-12/IFN-γ, defeitos na, 463

Via intrínseca, de apoptose, 336, 337*f*

Via mitocondrial, de apoptose, 336, 337*f*

Via não canônica, 176–177, 176*f*

Vias de inibição da célula T, bloqueio, 408–409

Vias de lectina, de ativação do complemento, 80, 287–288, 289*t*

Vias de sinalização de proteína quinase ativada por mitógeno, em linfócitos T, 158–161, 160*f*

Vias de sinalização medidas pela proteína quinase C, em linfócitos T, 161

Vias TLR, defeitos hereditários em, 463

Vibrio cholerae, 353*t*–354*t*

Vírus, 243

imunidade a, 362–366

imunidade adaptativa a, 362*f*, 363–364
imunidade inata a, 362–363, 362*f*
imunodeficiência humana, 475–486, *Ver também* Vírus da imunodeficiência humana (HIV)
imunoevasão por, 364–366, 364*t*, 365*f*
infecções a partir de
erradicação de, reações imunes mediadas por mastócito em, 455
respiratória, asma ou exacerbações e, 452
mecanismos de patogenicidade de, 353*t*–354*t*
vacinas virais vivas, recombinantes, envolvendo, 369*t*, 370
Vírus da imunodeficiência humana (HIV), 353*t*–354*t*, 475–486, *Ver também* Síndrome da imunodeficiência humana
características clínicas de, 482–484, 483*t*
características moleculares e biológicas de, 475–479
ciclo de vida, 477*f*
curso clínico de, 481*f*, 483–484
e genes, 475
estrutura de, 475, 476*f*
genoma, 476*f*
imunoevasão por, mecanismos de, 485
infecção, 474*t*
progressão, 480*f*
mecanismos de, 478*f*
da imunodeficiência causada por, 480–482
patogênese de, 479–482
renovação viral de, 482
reservatórios de, 482

respostas imunes a, 484–485
transmissão de, 482
vacinas contra, desenvolvimento de, 486
Vírus Epstein-Barr (EBV), 259–260, 353*t*–354*t*, 365
Vírus oncogênicos, antígenos de, 399
VLA-4 (*very late antigen 4*), 41*t*, 42

W

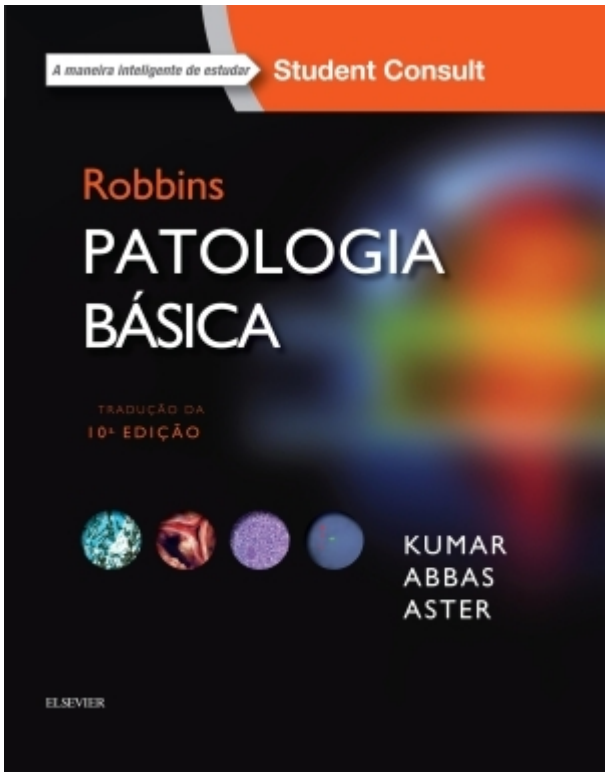
Western blotting, 533, 535*f*

X

Xenoantígenos, 374
Xenoenxerto, 374
Xenorreativo, linfócitos, 374

Z

ZAP-70 (proteína de 70 kDa ζ-associada), 156
deficiência de, 468
Zimógenos, 80
na ativação do complemento, 282
Zona de equivalência, em complexos antígeno-anticorpo, 112–113, 113*f*
Zona do manto, de folículo, circundando o centro germinativo, 261
Zona marginal, do baço, 35


A maneira inteligente de estudar
Student Consult
Robbins
PATOLOGIA
BÁSICA
TRADUÇÃO DA
10ª EDIÇÃO
KUMAR
ABBAS
ASTER
ELSEVIER

Robbins patologia básica

Kumar, Vinay

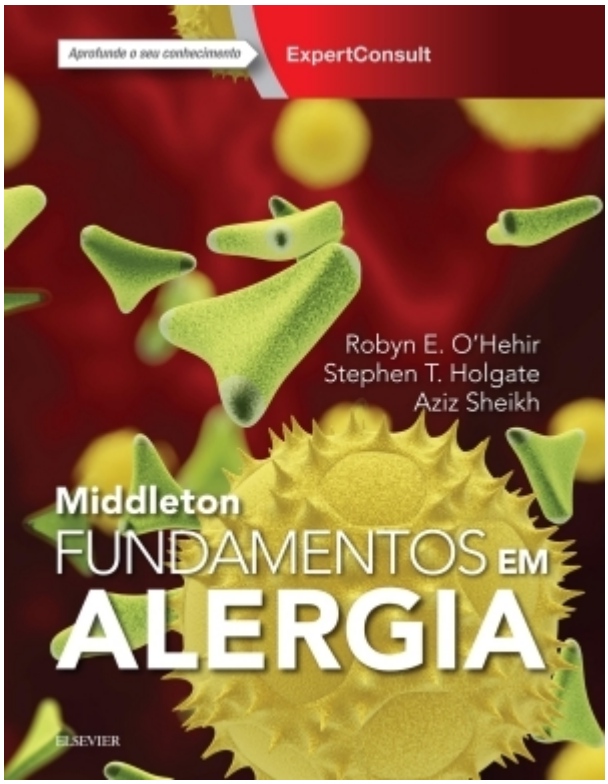
9788535288551

952 páginas

Compre agora e leia

Parte da confiável família Robbins e Cotran, Robbins Patologia Básica 10ª edição proporciona uma visão geral bem ilustrada, concisa e de leitura agradável dos princípios de patologia humana, ideal para os atarefados estudantes de hoje em dia. Esta edição cuidadosamente atualizada continua a ter forte ênfase na patogênese e nas características clínicas da doença, acrescentando novas ilustrações e diagramas mais esquemáticos para ajudar ainda mais no resumo dos principais processos patológicos e expandir o já impressionante programa de ilustrações.

Compre agora e leia


Aprofunde o seu conhecimento
ExpertConsult
Robyn E. O'Hehir
Stephen T. Holgate
Aziz Sheikh
Middleton
FUNDAMENTOS EM
ALERGIA
ELSEVIER

Middleton Fundamentos em Alergia

O'Hehir, Robyn E

9788535289282

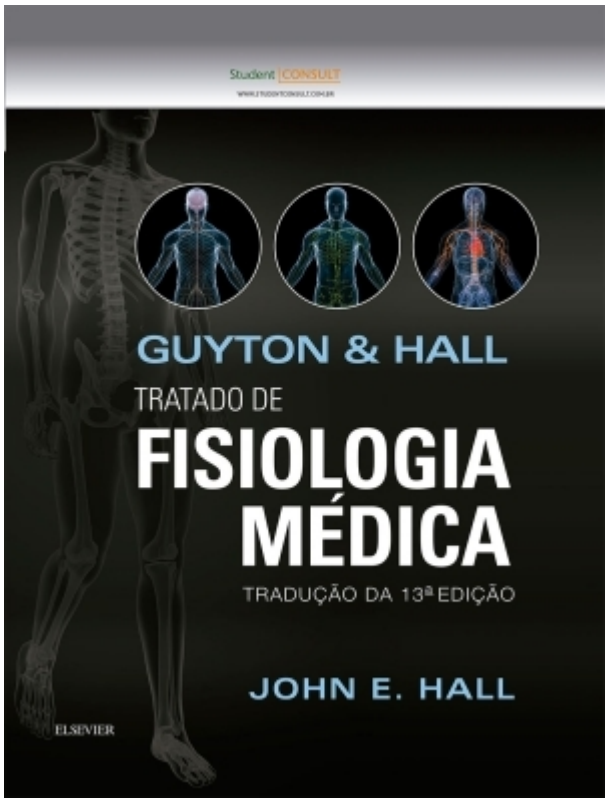
416 páginas

Compre agora e leia

O título é importante para iniciarmos nosso catálogo na área de Alergia uma vez que 60 milhões de pessoas no Brasil possuem algum tipo de Alergia, seja respiratória, alimentar, medicamentosa, dermatológica, de contato além de o número de consultas a alergistas triplicou nos últimos sete anos. Dessa maneira, há a necessidade de alergistas e imunologistas, clínicos gerais, pediatras, médicos generalistas se atualizarem e se informarem de todos os tipos de alergia, fisiopatologia, diagnósticos e tratamentos. Além disso, o conteúdo é escrito pelas grandes referências mundiais no tema,

pessoas que fizeram ou fazem história no mundo da Alergia e da Imunologia, portanto é bibliografia necessária para o público-alvo supramencionado. Vale ressaltar que além das razões já mencionadas, também temos interesse em adquirir para o nosso catálogo esse título, que é um Essentials, alavancar a nossa área de Alergia e tentar viabilizar a contratação da nona edição do Middleton´s Allergy (Tratado), que provavelmente vai nos trazer um grande LOE.

Compre agora e leia


Student CONSULT
GUYTON & HALL
TRATADO DE
FISIOLOGIA
MÉDICA
TRADUÇÃO DA 13ª EDIÇÃO
JOHN E. HALL
ELSEVIER

Guyton E Hall Tratado De Fisiologia Médica

Hall, John E.

9788535285543

1176 páginas

Compre agora e leia

A 13ª edição do Guyton & Hall Tratado de Fisiologia Médica mantém a longa tradição deste best-seller como o melhor livro-texto de Fisiologia Médica do mundo. Diferentemente de outros livros, este guia claro e de fácil compreensão tem voz autoral única e consistente e ressalta o conteúdo mais relevante para os estudantes clínicos e pré-clínicos. O texto detalhado, porém esclarecedor, é complementado por ilustrações didáticas que resumem conceitos-chave em fisiologia e fisiopatologia. • O texto com fonte maior enfatiza a informação essencial sobre como o corpo deve manter a homeostasia de modo

a permanecer saudável, ao mesmo tempo em que as informações de apoio e os exemplos são detalhados com tamanho de fonte menor e destacados em lilás. • As figuras e tabelas de resumo transmitem de maneira facilitada os processos chave apresentados no texto. • Contém a nova tabela de referência rápida de valores laboratoriais padrão no final do livro. • Acréscimo do número de figuras, correlações clínicas e mecanismos moleculares e celulares importantes para a medicina clínica. • Inclui o conteúdo online em português do Student Consult, que oferece uma experiência digital aprimorada: banco de imagens, referências, perguntas e respostas e animações. Junto com a nova edição da consagrada referência mundial da fisiologia, Guyton & Hall, você também tem acesso à forma mais inovadora, simples, visual e objetiva de aprender fisiologia, o Homem Virtual, a maneira inteligente de estudar fisiologia em 3D.

Compre agora e leia

TRATADO DE
GINECOLOGIA
FEBRASGO
EDITORES
César Eduardo Fernandes • Marcos Felipe Silva de Sá
COORDENADORES
Agnaldo Lopes da Silva Filho • Luciano de Melo Pompei
Rogério Bonassi Machado • Sérgio Podgaec
ELSEVIER
febrasgo

Tratado de ginecologia Febrasgo

Fernandes, César Eduardo

9788535292145

1024 páginas

Compre agora e leia

Obra referência para as provas da especialidade, certificação e recertificação na área de Ginecologia e Obstetrícia. Chancela Febrasgo. Obra referência para as provas da especialidade.

Compre agora e leia

TRATADO DE
OBSTETRÍCIA
FEBRASGO
EDITORES
César Eduardo Fernandes • Marcos Felipe Silva de Sá
COORDENADORES
Corintio Mariani Neto • Eduardo Cordioli
Olímpio Barbosa de Moraes Filho
ELSEVIER
febrasgo

Tratado de obstetrícia

Febrasgo

9788535292213

1024 páginas

Compre agora e leia

Domine o conteúdo da ginecologia e obstetricia e passe nas provas da sociedade com o novo tratado da Febrasgo, um texto de referência para esta importante área. Chancela Febrasgo Referência para as provas da especialidade, certificação e recertificação.

Compre agora e leia